

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号
特開2001-72607
(P2001-72607A)

(43) 公開日 平成13年3月21日 (2001.3.21)

(51) Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	テーマコード [*] (参考)
A 6 1 K 48/00		A 6 1 K 48/00	4 B 0 2 4
	35/76	35/76	4 C 0 8 4
A 6 1 P 3/06		A 6 1 P 3/06	4 C 0 8 7
	3/10	3/10	
	9/10	9/10	
審査請求 未請求 請求項の数10 O L (全 25 頁) 最終頁に続く			
(21) 出願番号	特願平11-250872	(71) 出願人	000001029 協和醗酵工業株式会社 東京都千代田区大手町 1 丁目 6 番 1 号
(22) 出願日	平成11年9月3日 (1999.9.3)	(72) 発明者	永井 良三 群馬県前橋市国領町 2-22-13-104
		(72) 発明者	黒尾 誠 アメリカ合衆国テキサス州ダラス プラシ ッドウェイ5177
		(72) 発明者	鍋島 陽一 京都府京都市左京区聖護院蓮華蔵町 8- 303
		最終頁に続く	

(54) 【発明の名称】 新規血管内皮機能改善法

(57) 【要約】

【課題】高血圧、動脈硬化等の病態の成因は複雑であり、患者の病態や合併症に合わせて治療法が選択できるよう、新しい作用メカニズムに基づく治療薬、予防薬の開発が望まれている。

【解決手段】血管内皮機能の低下を伴う高血圧や動脈硬化等の疾患を発症した動物モデルに対して、クロソ遺伝子 cDNA を組み込んだ組換えベクターを投与することにより、それらの疾患モデル動物の血管内皮機能、高血圧、動脈硬化等を改善することができる。

【特許請求の範囲】

【請求項1】クロソ遺伝子cDNAを組み込んだ組換えベクターの有効量を含んでなる、哺乳動物の血管内皮機能劣化による病態を改善または予防するための医薬組成物。

【請求項2】クロソ遺伝子cDNAがWO98/29544に記載の老化抑制遺伝子cDNAである、請求項1記載の医薬組成物。

【請求項3】クロソ遺伝子cDNAが配列番号1、2、3、4および5で表される塩基配列から選ばれる塩基配列を有するDNA、または該DNAとストリンジェントな条件下でハイブリダイズするDNAである請求項1記載の医薬組成物。

【請求項4】血管内皮機能劣化による病態が、高血圧、動脈硬化、高コレステロール血症、糖尿病、心筋梗塞および脳梗塞からなる群から選ばれる疾患である請求項1記載の医薬組成物。

【請求項5】組換えベクターが、クロソ遺伝子cDNAをプラスミドベクターおよびウイルスベクターから選ばれるベクターに組み込んだものである請求項1記載の医薬組成物。

【請求項6】ウイルスベクターが、レトロウイルスベクター、アデノウイルスベクター、アデノ関連ウイルスベクターおよびヘルペスウイルスベクターから選ばれる請求項1記載の医薬組成物。

【請求項7】クロソ遺伝子cDNAをウイルスベクターに組み込んだクロソ遺伝子組換えベクター。

【請求項8】ウイルスベクターが、レトロウイルスベクター、アデノウイルスベクター、アデノ関連ウイルスベクターおよびヘルペスウイルスベクターから選ばれる請求項7記載のクロソ遺伝子組換えベクター。

【請求項9】請求項1～6のいずれかに記載の医薬組成物を、血管内皮機能劣化による病態を持つ哺乳動物または該病態に陥る可能性のある哺乳動物に、その有効量を投与することにより、該病態の治療または予防を行う方法。

【請求項10】血管内皮機能劣化による病態が、高血圧、動脈硬化、高コレステロール血症、糖尿病、心筋梗塞および脳梗塞からなる群から選ばれる疾患である請求項9記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は血管内皮機能劣化による病態を改善または、その状態に陥ることを予防するための方法、医薬組成物、およびそれらに用いる組換えベクターに関するものである。より詳細には、クロソ遺伝子に代表される血管内皮機能改善のための遺伝子DNAを含む発現ベクターを該病態を持つまたは該病態に陥る可能性のある哺乳動物に投与し、該病態を改善（治療）、またはその状態に陥ることを予防する方法、該方

法に用いる医薬組成物およびそれらに用いる組換えベクターに関する。

【0002】

【従来の技術】クロソ遺伝子は、寿命の短縮、各種臓器の石灰化、動脈硬化、生殖臓器の萎縮など、顕著かつ多彩な早期老化症状を呈するトランスジェニックマウス（クロソマウス）の外来遺伝子挿入部に存在し、その発現が低下するとマウスに前記老化症状を引き起こす原因遺伝子として同定された遺伝子である。クロソマウスは生後3週目までは野生型のマウスと同様に生育するが、その後は成長が止まり様々な老化の兆候を示す。6週齢になると、クロソマウスの活動性は野生型の50%程度に低下し、パーキンソン病様の歩行がみられる。性腺は萎縮しており不妊である。骨粗鬆症が顕著となるほか、大動脈弁、気管支、脳の脈絡叢に異所性の石灰化が生じる。動脈系では、血管内膜の肥厚や中膜の石灰化といった加齢に特徴的なメンケベルグ型の動脈硬化所見を示す。その他皮膚の萎縮や、肺気腫も観察されるようになる〔WO98/29544、Nature, 390, 45 (1997)〕。クロソ遺伝子のcDNAの解析から、クロソ遺伝子はスプライシングの違いにより2種類のmRNAが転写され、該mRNAより2種類の蛋白が翻訳される（以下、これら蛋白を含め、クロソ遺伝子にコードされる蛋白をクロソ蛋白と呼ぶ）。

【0003】上記2種類のmRNAにコードされるクロソ蛋白の内、一方の蛋白はN末端のシグナル配列領域、細胞外ドメイン領域およびC末端の膜貫通ドメイン領域を有する構造を持つ1型膜蛋白（以下、膜結合型クロソ蛋白と呼ぶ）であり、細胞外ドメインは細菌あるいは植物のβ-グルコシダーゼに相同性を持つ2つのドメイン（KL1、KL2）より構成されている。これに対して、もう一方の蛋白は、N末端のシグナル配列領域とKL1ドメイン領域を有する分泌蛋白（以下、分泌型クロソ蛋白と呼ぶ）であることが明らかにされた〔Biochem. Biophys. Res. Commun., 242, 626 (1998)〕。

【0004】クロソ遺伝子変異が様々な老化症状を引き起こす機作や、クロソ蛋白の分子機能はまだ明らかにされていない。クロソ遺伝子の発現は腎臓で高いが、激しい老化症状は、肺、骨、胃壁、皮膚等を含む全身臓器に及んでいる。このことから、その分子機能には何らかの分泌性の因子が存在し、作用を発揮していることが推定されている〔Nature, 390, 45 (1997)〕。

【0005】クロソマウスとクロソ遺伝子発現トランスジェニックマウスとの交配実験および、膜結合型クロソ遺伝子のcDNAを組み込んだアデノウイルスベクターを用いてクロソマウス体内でクロソ蛋白を発現させる実験等により、クロソマウスの老化症状発症の予防が達成されたことから、クロソ蛋白の機能不全に由来する疾患の治療は、何らかの手段を用いてクロソ遺伝子を増強することにより達成されることが示唆されている〔Nature, 39

9, 45 (1997), W098/29544]。血管内皮細胞は、内皮依存性血管弛緩因子や内皮依存性血管収縮因子を放出して血管緊張を調節しているばかりでなく、血管内膜の透過性や血小板凝集にも深く関与しており、血栓性動静脈疾患の発症進展に重要な役割を演じている。血管内皮依存性血管弛緩因子としては、一酸化窒素(NO)、プロスタグランジン I_2 、C型ナトリウム利尿ペプチド、アドレノメジュリン、血管内皮由来過分極因子などが挙げられる。一方、内皮依存性血管収縮因子としては、トロンボキサン A_2 、アンジオテンシンII、エンドセリン、プロスタグランジン H_2 等が知られている。

【0006】NOは、ウサギ動脈の摘出標本にアセチルコリンを作用させると、内皮細胞を保持した標本でのみ、特異的に弛緩反応が生じること〔Nature, 288:373 (1980)〕より血管内皮由来血管弛緩因子(EDRF)の一つとして同定された。NOは血管内皮に存在するNO合成酵素(NOS)がL-アルギニンを酸化して遊離される。NOは隣接する血管平滑筋細胞に達し、そのグアニル酸シクラーゼを活性化し、cGMPを増加させ血管弛緩に至る。NOSには、神経型NOS(nNOS)、内皮型NOS(eNOS)、および誘導型NOS(iNOS)の三種類のアイソフォームの存在が明らかにされている。このうち、内皮型NOSの欠損マウスでは、内皮依存性の血管拡張反応が欠如し、血圧も健康マウスより20mmHg高くなることから、血流や血圧の調節に必須のNO依存性の血管収縮調節機構が存在することが示された〔Nature, 377, 239 (1995)〕。

【0007】このように、血管内皮機能と内皮細胞の産生するNO量との間には密接な関係があり、NOの産生能を測定することは临床上重要な問題である。しかしNOは微量しか存在しないうえに不安定であるので、NOを直接測定しようという試みは臨床分野に応用されていない。その結果、NOの動態は一般的に血管内皮の機能を測定することにより推定されている。血管内皮の機能は一般的に内皮依存性の血管拡張反応を調べることにより行われている〔医学のあゆみ 189, 517 (1999)〕。これは動脈にアセチルコリンのような内皮依存性血管拡張薬を投与して、その際の血管拡張の程度により内皮のNO分泌能を評価する方法である。クロソマウスにおいて、血管内皮機能をアセチルコリンに対する血管内皮依存性弛緩反応を指標に測定してみると、クロソ遺伝子の発現が高い正常マウスに比べ、クロソマウスの動脈では最大血管拡張反応が低下している。また、正常マウスに比べクロソ遺伝子の発現が約半分に低下しているクロソヘテロマウスでは、最大血管拡張反応がクロソマウス程ではないが低下していることから、クロソ遺伝子の発現量と血管内皮の機能との間には相関があることが示唆されている。クロソマウスにおける血管機能障害には、血管内皮細胞におけるNO産生障害が関わっていることが示されている〔BBRC, 248, 324 (1998)〕。実際に、正常

マウスとクロソヘテロマウス個体を外科的手術により結合させ、両者の間で体液の交換が行われるようにすると、クロソヘテロマウスの血管内皮の機能が正常マウスと同じ程度にまで回復する〔BBRC, 248, 324 (1998)〕ことから、クロソ蛋白を増強すると血管内皮機能を改善できることが期待される。しかし、血管内皮機能の低下した疾患、例えば動脈硬化や高血圧等の疾患において外部よりクロソ遺伝子、またはクロソ蛋白を投与してこのような疾患の治療あるいは予防を行ったとの報告はない。

【0008】

【発明が解決しようとする課題】高血圧、動脈硬化等の病態の成因は複雑であり、患者の病態や合併症に合わせて治療法が選択できるよう、新しい作用メカニズムに基づく治療薬、予防薬の開発が望まれている。

【0009】

【課題を解決するための手段】血管内皮機能の低下を伴う高血圧や動脈硬化等の疾患を発症した動物モデルに対して、クロソ遺伝子cDNAを組み込んだ組換えベクターを投与することにより、それらの疾患モデル動物の血管内皮機能、高血圧、動脈硬化の病態を改善することができることを見出し本発明を完成するに至った。

【0010】本願発明は下記(1)～(10)に関する。

(1) クロソ遺伝子cDNAを組み込んだ組換えベクターの有効量を含んでなる、哺乳動物の血管内皮機能劣化による病態を改善または予防するための医薬組成物。

(2) クロソ遺伝子cDNAがW098/29544に記載の老化抑制遺伝子cDNAである、1項記載の医薬組成物。

(3) クロソ遺伝子cDNAが配列番号1、2、3、4および5で表される塩基配列から選ばれる塩基配列を有するDNA、または該DNAとストリンジェントな条件下でハイブリダイズするDNAである1記載の医薬組成物。

(4) 血管内皮機能劣化による病態が、高血圧、動脈硬化、高コレステロール血症、糖尿病、心筋梗塞および脳梗塞からなる群から選ばれる疾患である1項記載の医薬組成物。

(5) 組換えベクターが、クロソ遺伝子cDNAをプラスミドベクターおよびウイルスベクターから選ばれるベクターに組み込んだものである1項記載の医薬組成物。

(6) ウイルスベクターが、レトロウイルスベクター、アデノウイルスベクター、アデノ関連ウイルスベクターおよびヘルペスウイルスベクターから選ばれる1項記載の医薬組成物。

(7) クロソ遺伝子cDNAをウイルスベクターに組み込んだクロソ遺伝子組換えベクター。

(8) ウイルスベクターが、レトロウイルスベクター、アデノウイルスベクター、アデノ関連ウイルスベクター

およびヘルペスウイルスベクターから選ばれる7項記載のクロソ遺伝子組換えベクター。

(9) 1～6項のいずれかに記載の医薬組成物を、血管内皮機能劣化による病態を持つ哺乳動物または該病態に陥る可能性のある哺乳動物に、その有効量を投与することにより、該病態の治療または予防を行う方法。

(10) 血管内皮機能劣化による病態が、高血圧、動脈硬化、高コレステロール血症、糖尿病、心筋梗塞および脳梗塞からなる群から選ばれる疾患である9項記載の方法。

【0011】

【発明の実施の形態】本発明によれば、クロソ遺伝子cDNAを組み込んだ組換えベクターの有効量を含んでなる、哺乳動物の血管内皮機能劣化による病態、例えば高血圧、動脈硬化を改善または予防するための医薬組成物を、血管内皮機能劣化による病態を持つ哺乳動物または該病態に陥る可能性のある哺乳動物に投与することにより、該病態の治療または予防を行うことができる。

【0012】組換えベクターは、クロソ遺伝子cDNAをベクターに組み込むことにより得ることができる。組換えベクター作製に用いるベクターとしては、プラスミドベクターまたはウイルスのベクター（ウイルスベクター）を用いることができるが、クロソ遺伝子cDNAを哺乳動物に導入し効率良く発現させるために、ウイルスベクターを用いるのが好ましい。ウイルスベクターとしては、アデノウイルス科、レトロウイルス科、パルボウイルス科、ヘルペスウイルス科、ポックスウイルス科、パポウイルス科、ヘパドナウイルス科、トガウイルス科、フラビウイルス科、コロナウイルス科、ラブドウイルス科、パラミクソウイルス科、オルソミクソウイルス科、バンヤウイルス科、アレナウイルス科およびレオウイルス科よりなる群のいずれかの科に属するウイルスおよびこれらのウイルスより由来するベクター、アデノウイルスドデカヘドロンベクター〔Fender et al., *Nature Biotech.* 15: 52 (1997)〕のようなウイルスタンパク質から由来するベクター、ウイルスタンパク質をリボソームに組み合わせたベクター（例えば、センダイウイルスとリボソームベクター等）等が包含されるが、ヒトアデノウイルスが好ましく用いられる。

【0013】例えばアデノウイルスをベクターとして用い、該病態を持つ患者の病態を改善する方法の具体例を以下に示す。

(i) クロソ遺伝子cDNAを含む組換えコスミドの構築
組換えコスミドはプロモーター、クロソ遺伝子cDNA、およびポリA付加シグナルを含み、さらにE1A、E1B及びE3を欠失した5型アデノウイルスゲノムDNAを含むことが好ましい。

【0014】クロソ遺伝子cDNAを導入するためのコスミドとしてpAxCwt〔*Nucl. Acids Res.*, 23, 3816 (1995)〕等があげられる。クロソ遺伝子cDNAとしては

WO98/29544に記載されたDNAであれば何れも用いることができるが、これらに限定されるものではない。具体的配列としては、配列番号1、2、3、4および5で表される塩基配列から選ばれる塩基配列を有するDNA、または該DNAとストリンジェントな条件下でハイブリダイズするDNA等があげられる。

【0015】ここで、ストリンジェントな条件下でハイブリダイズ可能なDNAとは、配列番号1～5のいずれかで表される塩基配列を有するDNAをプローブとして、コロニー・ハイブリダイゼーション法、プラーク・ハイブリダイゼーション法あるいはサザンブロット・ハイブリダイゼーション法等を用いることにより得られるDNAを意味し、具体的には、コロニーあるいはプラーク由来のDNAを固定化したフィルターを用いて、0.7～1.0Mの塩化ナトリウム存在下、65℃でハイブリダイゼーションを行った後、0.1～2倍濃度のSSC溶液（1倍濃度のSSC溶液の組成は、150mM塩化ナトリウム、15mMクエン酸ナトリウムよりなる）を用い、65℃条件下でフィルターを洗浄することにより同定できるDNAをあげることができる。ハイブリダイゼーションは、モレキュラー・クロニング第2版、カレント・プロトコールズ・イン・モレキュラー・バイオロジー、DNA Cloning 1: Core Techniques, A Practical Approach, Second Edition, Oxford University (1995)等に記載されている方法に準じて行うことができる。ハイブリダイズ可能なDNAとして具体的には、FASTを用いて計算したときに、配列番号1、2、3、4および5で表される塩基配列と少なくとも60%以上の相同性を有するDNA、好ましくは80%以上の相同性を有するDNA、さらに好ましくは95%以上の相同性を有するDNAをあげることができる。

【0016】なお、ファージ、プラスミド、DNA、各種酵素、大腸菌、培養細胞などを取り扱う諸操作は、特に断らない限り、Molecular Cloning, A Laboratory Manual, T. Maniatisら編、第2版(1989)、Cold Spring Harbor Laboratory（以下、モレキュラー・クロニング第2版と略す）に記載の方法に準じて行った。常法により、コスミドを適当な制限酵素、たとえばSwa I等で切断し、クロソ遺伝子cDNAを接続することにより組換えコスミドを作製する。

(ii) クロソ遺伝子cDNAを含む組換えアデノウイルスの作製

組換えアデノウイルスの作製は、例えば三宅らの方法〔*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 93, 1320 (1996)〕で作製することができる。

【0017】具体的には(i)で作成したクロソ遺伝子cDNAを含む組換えコスミドと例えばEcoT22Iにより切断されたE3、E1A、E1Bを欠損した5型アデノウイルスAd5dIXDNA〔*J. Virology*, 54, 711 (1985)〕とを混合し、例えばリン酸カルシウム法やリポフ

エクシオン法〔特開平2-227075、実験医学別冊新遺伝子工学ハンドブック 羊土社(19996)〕を用いてE1A、E1B遺伝子を含む細胞株、例えばヒト胎児由来293細胞〔J. Gen. Virol., 36, 59 (1977)〕に導入する。細胞内でコスミドとアデノウイルスDNAの組換えが生じれば、組換えアデノウイルスが生成し、細胞の死滅がおこるため、該細胞の死滅を指標にクロソ遺伝子cDNAを含む組換えアデノウイルスの生成を確認する。死滅した細胞を回収し、例えば凍結融解を繰返し行ったり、細胞破砕機を使用することにより細胞を破砕してクロソ遺伝子cDNAを含む組換えアデノウイルス溶液を得る。

【0018】得られた溶液から組換えアデノウイルスのDNAを常法により抽出し、制限酵素、例えばXhoIで切断することによりその構造の確認を行う。

(iii) 組換えアデノウイルスの精製

得られた組換えアデノウイルスのDNAは例えば鐘ヶ江らの方法〔Jpn. J. Med. Sci. Biol., 47, 157 (1994)〕に従い、2回の塩化セシウム密度勾配により精製し、10%グリセロールを含むPBS、10%グリセロールを含むHEPES-MgCl₂、10%グリセロールを含むHEPES-EDTA等の溶液で懸濁後、-80℃に保存し、適宜使用することができる。

(iv) クロソ遺伝子cDNAを含む組換えアデノウイルスの病態モデルへの投与

(iii)で得られたクロソ遺伝子cDNAを発現する組換えウイルス溶液を透析処理してグリセロールを除去し、生理食塩水を用いて適量に希釈して組換えウイルスを得る。肥満、高インスリン血症を伴い高血圧及び高脂血症を生じ、肥満型のヒトNIDDM(インスリン非依存型糖尿病)に類似した病態を示すOtsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) ラット〔Diabetes, 41, 1422 (1992)〕(30週齢)に筋注により、組換えウイルス5X10⁸ p.f.u.を週一回3週間投与し、投与後の経過において、病態モデルの示す病態に改善があったかどうかを確認する。以上は、アデノウイルスを用いる本発明方法の具体例を示したが、アデノウイルス以外でも本発明の目的を達することができる。いずれのウイルスでも用いることができる。

【0019】他のウイルスベクターを用いる組換えウイルスベクターの作製は、ウイルスを構成するタンパク質をコードするDNAに対し、一般的な組み換えDNA作成技術(モレキュラークローニング第2版などを参照)を用いてクロソタンパク質をコードするように該当するウイルスタンパク質のコード領域を入れかえることによって行なえる。コスミドの作製あるいはDNAの抽出、その他の遺伝子組換え技術については、例えば以下のような文献に記載の方法により行うことができる。

【0020】Wolff ed., Gene therapeutics: Methods

and applications of direct genettransfer. Birkhaeuser, Boston, 1994; Kaplitt and Loewy eds., Viral vectors: Gene therapy and neuroscience application s. Academic Press, San Diego, 1995; Liu et al. ed s., DNA vaccines: A new era in vaccinology. Annals of the New York Academy of Sciences vol. 772. The New York Academy of Sciences, New York, 1995; Gluzman and Hughes eds., Viral vectors: Current communications in molecular biology Cold Spring Harbor Laboratory, New York, 1988; Roth ed., Methods in cell biology. vol. 43. Protein expression in animal cells. Academic Press, San Diego 1994.

組換えベクターを含有する医薬組成物は、該ベクター単独でも可能ではあるが、通常は該ベクターを薬理学的に許容される一つあるいはそれ以上の担体と一緒に混合し、製剤学の技術分野において用いられる任意の方法により製造した医薬製剤として提供するのが望ましい。好ましくは水、あるいは食塩、グリシン、グルコース、ヒトアルブミン等の水溶液等の水性担体に溶解した無菌的な溶液が用いられる。また、製剤溶液を生理的条件に近づけるための緩衝化剤や等張化剤のような、薬理学的に許容される添加剤、例えば、酢酸ナトリウム、塩化ナトリウム、乳酸ナトリウム、塩化カリウム、クエン酸ナトリウム等を添加することもできる。また、凍結乾燥して貯蔵し、使用時に適当な溶媒に溶解させて用いることもできる。

【0021】投与経路は、治療に際して最も効果的なものを使用するのが望ましく、経口投与、または口腔内、気道内、直腸内、皮下、筋肉内および静脈内等の非経口投与をあげることができる。投与形態としては、噴霧剤、カプセル剤、錠剤、顆粒剤、シロップ剤、乳剤、座剤、注射剤、軟膏、テープ剤等があげられる。経口投与に適当な製剤としては、乳剤、シロップ剤、カプセル剤、錠剤、散剤、顆粒剤等があげられる。例えば乳剤およびシロップ剤のような液体調製物は、水、ショ糖、ソルビトール、果糖等の糖類、ポリエチレングリコール、プロピレングリコール等のグリコール類、ごま油、オリーブ油、大豆油などの油類、p-ヒドロキシ安息香酸エステル類等の防腐剤、ストロベリーフレーバー、ペパーミント等のフレーバー類等を添加剤として用いて製造できる。カプセル剤、錠剤、散剤、顆粒剤等は、乳糖、ブドウ糖、ショ糖、マンニトール等の賦形剤、デンプン、アルギン酸ナトリウム等の崩壊剤、ステアリン酸マグネシウム、タルク等の滑沢剤、ポリビニルアルコール、ヒドロキシプロピルセルロース、ゼラチン等の結合剤、脂肪酸エステル等の界面活性剤、グリセリン等の可塑剤等を添加剤として用いて製造できる。

【0022】非経口投与に適当な製剤としては、注射剤、座剤、噴霧剤等があげられる。例えば、注射剤は、塩溶液、ブドウ糖溶液、あるいは両者の混合物からなる

担体等を用いて調製する。座剤はカカオ脂、水素化脂肪またはカルボン酸等の担体を用いて調製される。また、噴霧剤は該ベクターそのもの、ないしは受容者の口腔および気道粘膜を刺激せず、かつ該ベクターを微細な粒子として分散させ吸収を容易にさせる担体等を用いて調製する。担体として具体的には乳糖、グリセリン等が例示される。該ベクターおよび用いる担体の性質により、エアロゾル、ドライパウダー等の製剤が可能である。また、これらの非経口剤においても経口剤に添加剤として例示した成分を添加することもできる。投与量または投与回数は、目的とする治療効果、投与方法、治療期間、年齢、体重、ウイルスベクターの種類等により異なるが、通常成人1回当たりウイルスベクターとして $10^3 \sim 10^{15}$ 個を投与する。本発明においては、クロソ遺伝子cDNAを遺伝子治療の方法を用いて患者に投与することにより疾患の治療を行うこともできる。以上の方法を用いて、病態の治療を行った場合の効果は、血圧の低下、血管内皮機能の改善を指標に評価する。血管内皮の機能を測定する一般的方法としては、内皮依存性の血管拡張反応を調べる方法があげられる。これは動脈にアセチルコリンのような内皮依存性血管拡張薬を投与して、その際の血管拡張の程度により内皮のNO分泌能を評価する方法である〔医学のあゆみ 189, 517 (1999)〕。

【0023】以下、ウイルスベクターとしてヒト5型のアデノウイルス(Ad5)を、組み込む遺伝子としてマウス由来クロソ遺伝子cDNAを用いて、肥満、高インスリン血症を伴い、高血圧及び高脂血症を生じ、肥満型のヒトNIDDMに類似した病態を示すOtsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) ラットの血管内皮機能を改善した例を用いて本発明を具体的に説明するが、本発明はこれらの例に限定されるものではない。

【0024】

【実施例】実施例1：クロソ遺伝子cDNAを含む組換えアデノウイルス投与による血管機能改善。
(工程1) マウス由来クロソ遺伝子cDNAを含む組換えアデノウイルスの作製は基本的には三宅らの方法〔Proc. Natl Acad. Sci. USA., 93, 1320 (1996)〕に従った。具体的にはマウス由来クロソ遺伝子cDNAを含むプラスミドpNKM101 (FERM BP-5765, WO98/29544) をNotIおよびXbaIで切断し、得られた該遺伝子を含む3.1 kb断片をDN A Blunting kit (宝酒造社製) により、両末端を平滑化した。

【0025】該断片3 μ gとE3、E1A、E1B領域を欠失した5型アデノウイルスゲノムおよびサイトメガロウイルスエンハンサー、チキン β アクチンプロモーターのキメラプロモーター(CAGプロモーター)を含むコスミドpAxC Awt [鐘ヶ江らNucl. Acids Res.,

23, 3816 (1995)] のSwaI断片1 μ gとをT4 DNAリガーゼ緩衝液20 μ lに溶解し、該溶液にT4 DNAリガーゼを1単位加え、16°Cで18時間結合反応を行った。

【0026】該リガーゼ反応液及びGigapack II XL Packaging Extract (Stratagene社製)を用いてインビトロパッケージング(in vitro packaging)を行い、得られたファージを大腸菌DH5 α [J. Bacteriology, 170, 611 (1988)]へ感染させ、組換えコスミドを取得した。なお、組換えコスミドでのマウス由来クロソ遺伝子cDNAのプロモーターに対する方向の確認は、コスミドをBamHIで切断後、1.6 kbの断片を検出することにより行った。

【0027】このようにして得られたコスミド8 μ gとEcoT22Iにより切断されたE3、E1A、E1Bを欠損した5型アデノウイルスAd5dIX DNA [J. Virology, 54, 711 (1985)] 1 μ gとを混合し、CellPect Transfection Kit (Pharmacia Biotech社製)を用い、リン酸カルシウム法で、ヒト胎児由来293細胞ヘトランスフェクションを行った。以後は鐘ヶ江らの方法〔バイオマニユアルシリーズ, 4, 43-58, 羊土社(1994)〕に従い組換えウイルスを取得した。

【0028】該組換えウイルスを、鐘ヶ江らの方法〔Jpn. J. Med. Sci. Biol., 47, 157 (1994)〕に従い2回の塩化セシウム密度勾配により精製し、10%グリセロールを含むPBSで懸濁後、-80°Cに保存し適宜使用した。該組換えウイルス溶液のウイルス力価は鐘ヶ江らの方法〔Jpn. J. Med. Sci. Biol., 47, 157 (1994)〕に従い算定したところ、 1×10^9 p.f.u./mlのウイルスを含んでいることがわかった。

【0029】(工程2)工程1で得られた組換えウイルス溶液を透析処理してグリセロールを除去し、生理食塩水を用いて適量に希釈してマウス全長型クロソを発現する組換えウイルスを得た。肥満、高インスリン血症を伴い高血圧及び高脂血症を生じ、肥満型のヒトNIDDMに類似した病態をしめすOtsuka Long-Evans Tokushima Fatty (OLETF) ラット〔Diabetes, 41, 1422 (1992)〕 (30週齢)に筋注により、組換えウイルス 5×10^8 p.f.u.を週一回3週間投与した。その結果、ラットの血圧は非投与群では 156.3 ± 4 mmHg (n=8)であったものが、投与群に於いては 139.4 ± 7 mmHg (n=5)に改善された。

【0030】(工程3)工程2で得られたOLETFラットにナトリウムペントバルビタール(50 mg/kg)を腹腔内投与して麻酔後、胸部を切開して胸部大動脈を摘出する(3 mm)。単離された胸部大動脈(大動脈リング)を2本のスチールワイヤーの間にかけ、これを10 mlのKrebs' bicarbonate溶液〔120 mM NaCl, 5.2 mM KCl, 2.4 mM

MCaCl₂, 1.2mM MgSO₄·7H₂O, 25mM NaHCO₃, 0.03mM Na₂-EDTA, 11mM dextrose (pH7.4) に浸す。溶液は95%の酸素、5%二酸化炭素の気泡を通じて酸素を飽和させてある。ワイヤーの一方の端は固定し、もう一方の端にBiochem. Biophys. Res. Commun., 248, 324 (1998) に記載の方法に従い力学変換機に接続する。大動脈リングに2.0gの重りを付加して張力を加え90分間放置した後、0.1μMのノルエピネフリンを添加して収縮させる。内皮機能はこの溶液に最終濃度10μMのアセチルコリンを添加した時、収縮した長さの何%が弛緩して回復したかで評価する。(OLETF) ラット(30週齢)に筋注により配列番号3で表される塩基配列を有するDNAでコードされるマウス全長型クロソを

Sequence Listing

<110> KYOWA HAKKO KOGYO CO., LTD.
 <120> NOVEL METHOD OF IMPROVING ENDOTHELIAL FUNCTION
 <130> H11-127
 <140>
 <141>
 <160> 5
 <170> PatentIn Ver.2.0

【0033】

<210> 1
 <211> 3163
 <212> DNA
 <1> Homo sapiens
 <220>
 <221> CDS
 <1> (9)...(3047)
 <400> 1
 cgcgcagc atg ccc gcc agc gcc ccg ccg cgc cgc ccg cgg ccg ccg ccg 50
 Met Pro Ala Ser Ala Pro Pro Arg Arg Pro Arg Pro Pro Pro
 1 5 10
 ccg tcg ctg tcg ctg ctg ctg gtg ctg ctg gcc ctg gcc gcc cgc cgc 98
 Pro Ser Leu Ser Leu Leu Leu Val Leu Leu Gly Leu Gly Gly Arg Arg
 15 20 25 30
 ctg cgt gcg gag ccg gcc gac gcc gcg cag acc tgg gcc cgt gtc tcg 146
 Leu Arg Ala Glu Pro Gly Asp Gly Ala Gln Thr Trp Ala Arg Val Ser
 35 40 45
 cgg cct cct gcc ccc gag gcc gcg gcc ctc ttc cag gcc acc ttc ccc 194
 Arg Pro Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Leu Phe Gln Gly Thr Phe Pro
 50 55 60
 gac gcc ttc ctc tgg gcc gtg gcc agc gcc gcc tac cag acc gag gcc 242
 Asp Gly Phe Leu Trp Ala Val Glyser Ala Ala Tyr Gln Thr Glu Gly
 65 70 75
 gcc tgg cag cag cac gcc aag ggt gcg tcc atc tgg gac acg ttc acc 290
 Gly Trp Gln Gln His Gly Lys Gly Ala Ser Ile Trp Asp Thr Phe Thr
 80 85 90
 cac cac ccc ctg gca ccc ccg gga gac tcc cgg aac gcc agt ctg ccg 338

発現するアデノウイルスを週一回3週間投与した後調製した大動脈リングの弛緩率は83±3%であった。これに対して無処置のOLETFラットでは67±2%で明らかな改善が見られた。

【0031】

【発明の効果】本発明により、クロソ遺伝子に代表されるような、動脈硬化、高血圧等の疾患の治療または予防薬をコードする核酸配列を含む発現ベクターを宿主に投与し、治療薬をコードする核酸配列をもつDNAを宿主に運び込むことにより、血管内皮機能を改善して、動脈硬化、高血圧をはじめクロソ遺伝子が関与する病態の治療、あるいは発症の予防が可能となることが示された。

【0032】

【配列表】

His	His	Pro	Leu	Ala	Pro	Pro	Gly	Asp	Ser	Arg	Asn	Ala	Ser	Leu	Pro	
95					100				105					110		
ttg	ggc	gcc	ccg	tcg	ccg	ctg	cag	ccc	gcc	acc	ggg	gac	gta	gcc	agc	386
Leu	Gly	Ala	Pro	Ser	Pro	Leu	Gln	Pro	Ala	Thr	Gly	Asp	Val	Ala	Ser	
			115					120					125			
gac	agc	tac	aac	aac	gtc	ttc	cgc	gac	acg	gag	gcg	ctg	cgc	gag	ctc	434
Asp	Ser	Tyr	Asn	Asn	Val	Phe	Arg	Asp	Thr	Glu	Ala	Leu	Arg	Glu	Leu	
		130						135					140			
ggg	gtc	act	cac	tac	cgc	ttc	tcc	atc	tcg	tgg	gcg	cga	gtg	ctc	ccc	482
Gly	Val	Thr	His	Tyr	Arg	Phe	Ser	Ile	Ser	Trp	Ala	Arg	Val	Leu	Pro	
		145					150					155				
aat	ggc	agc	gcg	ggc	gtc	ccc	aac	cgc	gag	ggg	ctg	cgc	tac	tac	cgg	530
Asn	Gly	Ser	Ala	Gly	Val	Pro	Asn	Arg	Glu	Gly	Leu	Arg	Tyr	Tyr	Arg	
	160					165					170					
cgc	ctg	ctg	gag	cgg	ctg	cgg	gag	ctg	ggc	gtg	cag	ccc	gtg	gtc	acc	578
Arg	Leu	Leu	Glu	Arg	Leu	Arg	Glu	Leu	Gly	Val	Gln	Pro	Val	Val	Thr	
175			180					185					190			
ctg	tac	cac	tgg	gac	ctg	ccc	cag	cgc	ctg	cag	gac	gcc	tac	ggc	ggc	626
Leu	Tyr	His	Trp	Asp	Leu	Pro	Gln	Arg	Leu	Gln	Asp	Ala	Tyr	Gly	Gly	
		195						200					205			
tgg	gcc	aac	cgc	gcc	ctg	gcc	gac	cac	ttc	agg	gat	tac	gcg	gag	ctc	674
Trp	Ala	Asn	Arg	Ala	Leu	Ala	Asp	His	Phe	Arg	Asp	Tyr	Ala	Glu	Leu	
		210						215					220			
tgc	ttc	cgc	cac	ttc	ggc	ggt	cag	gtc	aag	tac	tgg	atc	acc	atc	gac	722
Cys	Phe	Arg	His	Phe	Gly	Gly	Gln	Val	Lys	Tyr	Trp	Ile	Thr	Ile	Asp	
	225						230					235				
aac	ccc	tac	gtg	gtg	gcc	tgg	cac	ggc	tac	gcc	acc	ggg	cgc	ctg	gcc	770
Asn	Pro	Tyr	Val	Val	Ala	Trp	His	Gly	Tyr	Ala	Thr	Gly	Arg	Leu	Ala	
	240					245						250				
ccc	ggc	atc	cgg	ggc	agc	ccg	cgg	ctc	ggg	tac	ctg	gtg	gcg	cac	aac	818
Pro	Gly	Ile	Arg	Gly	Ser	Pro	Arg	Leu	Gly	Tyr	Leu	Val	Ala	His	Asn	
255				260				265					270			
ctc	ctc	ctg	gct	cat	gcc	aaa	gtc	tgg	cat	ctc	tac	aat	act	tct	ttc	866
Leu	Leu	Leu	Ala	His	Ala	Lys	Val	Trp	His	Leu	Tyr	Asn	Thr	Ser	Phe	
		275						280					285			
cgt	ccc	act	cag	gga	ggt	cag	gtg	tcc	att	gcc	cta	agc	tct	cac	tgg	914
Arg	Pro	Thr	Gln	Gly	Gly	Gln	Val	Ser	Ile	Ala	Leu	Ser	Ser	His	Trp	
		290						295					300			
atc	aat	cct	cga	aga	atg	acc	gac	cac	agc	atc	aaa	gaa	tgt	caa	aaa	962
Ile	Asn	Pro	Arg	Arg	Met	Thr	Asp	His	Ser	Ile	Lys	Glu	Cys	Gln	Lys	
	305						310						315			
tct	ctg	gac	ttt	gta	cta	ggt	tgg	ttt	gcc	aaa	ccc	gta	ttt	att	gat	1010
Ser	Leu	Asp	Phe	Val	Leu	Gly	Trp	Phe	Ala	Lys	Pro	Val	Phe	Ile	Asp	
	320					325						330				
ggt	gac	tat	ccc	gag	agc	atg	aag	aat	aac	ctt	tca	tct	att	ctg	cct	1058
Gly	Asp	Tyr	Pro	Glu	Ser	Met	Lys	Asn	Asn	Leu	Ser	Ser	Ile	Leu	Pro	
335				340						345				350		
gat	ttt	act	gaa	tct	gag	aaa	aag	ttc	atc	aaa	gga	act	gct	gac	ttt	1106
Asp	Phe	Thr	Glu	Ser	Glu	Lys	Lys	Phe	Ile	Lys	Gly	Thr	Ala	Asp	Phe	
		355						360					365			

ttt gct ctt tgc ttt gga ccc acc ttg agt ttt caa ctt ttg gac cct	1154
Phe Ala Leu Cys Phe Gly Pro Thr Leu Ser Phe Gln Leu Leu Asp Pro	
370 375 380	
cac atg aag ttc cgc caa ttg gaa tct ccc aac ctg agg caa ctg ctt	1202
His Met Lys Phe Arg Gln Leu Glu Ser Pro Asn Leu Arg Gln Leu Leu	
385 390 395	
tcc tgg att gac ctt gaa ttt aac cat cct caa ata ttt att gtg gaa	1250
Ser Trp Ile Asp Leu Glu Phe Asn His Pro Gln Ile Phe Ile Val Glu	
400 405 410	
aat ggc tgg ttt gtc tca ggg acc acc aag aga gat gat gcc aaa tat	1298
Asn Gly Trp Phe Val Ser Gly Thr Thr Lys Arg Asp Asp Ala Lys Tyr	
415 420 425 430	
atg tat tac ctc aaa aag ttc atc atg gaa acc tta aaa gcc atc aag	1346
Met Tyr Tyr Leu Lys Lys Phe Ile Met Glu Thr Leu Lys Ala Ile Lys	
435 440 445	
ctg gat ggg gtg gat gtc atc ggg tat acc gca tgg tcc ctc atg gat	1394
Leu Asp Gly Val Asp Val Ile Gly Tyr Thr Ala Trp Ser Leu Met Asp	
450 455 460	
ggt ttc gag tgg cac aga ggt tac agc atc agg cgt gga ctc ttc tat	1442
Gly Phe Glu Trp His Arg Gly Tyr Ser Ile Arg Arg Gly Leu Phe Tyr	
465 470 475	
gtt gac ttt cta agc cag gac aag atg ttg ttg cca aag tct tca gcc	1490
Val Asp Phe Leu Ser Gln Asp Lys Met Leu Leu Pro Lys Ser Ser Ala	
480 485 490	
ttg ttc tac caa aag ctg ata gag aaa aat ggc ttc cct cct tta cct	1538
Leu Phe Tyr Gln Lys Leu Ile Glu Lys Asn Gly Phe Pro Pro Leu Pro	
495 500 505 510	
gaa aat cag ccc cta gaa ggg aca ttt ccc tgt gac ttt gct tgg gga	1586
Glu Asn Gln Pro Leu Glu Gly Thr Phe Pro Cys Asp Phe Ala Trp Gly	
515 520 525	
gtt gtt gac aac tac att caa gta gat acc act ctg tct cag ttt acc	1634
Val Val Asp Asn Tyr Ile Gln Valasp Thr Thr Leu Ser Gln Phe Thr	
530 535 540	
gac ctg aat gtt tac ctg tgg gat gtc cac cac agt aaa agg ctt att	1682
Asp Leu Asn Val Tyr Leu Trp Asp Val His His Ser Lys Arg Leu Ile	
545 550 555	
aaa gtg gat ggg gtt gtg acc aag aag agg aaa tcc tac tgt gtt gac	1730
Lys Val Asp Gly Val Val Thr Lys Lys ArGLys Ser Tyr Cys Val Asp	
560 565 570	
ttt gct gcc atc cag ccc cag atc gct tta ctc cag gaa atg cac gtt	1778
Phe Ala Ala Ile Gln Pro Gln Ile Ala Leu Leu Gln Glu Met His Val	
575 580 585 590	
aca cat ttt cgc ttc tcc ctg gac tgg gcc ctg att ctc cct ctg ggt	1826
Thr His Phe Arg Phe Ser Leu Asp Trp Ala Leu Ile Leu Pro Leu Gly	
595 600 605	
aac cag tcc cag gtg aac cac acc atc ctg cag tac tat cgc tgc atg	1874
Asn Gln Ser Gln Val Asn His Thr Ile Leu Gln Tyr Tyr Arg Cys Met	
610 615 620	
gcc agc gag ctt gtc cgt gtc aac atc acc cca gtg gtg gcc ctg tgg	1922
Ala Ser Glu Leu Val Arg Val Asn Ile Thr Pro Val Val Ala Leu Trp	

625	630	635	
cag cct atg gcc ccg aac caa gga ctg ccg cgc ctc ctg gcc agg cag			1970
Gln Pro Met Ala Pro Asn Gln Gly Leu Pro Arg Leu Leu Ala Arg Gln			
640	645	650	
ggc gcc tgg gag aac ccc tac act gcc ctg gcc ttt gca gag tat gcc			2018
Gly Ala Trp Glu Asn Pro Tyr Thr Ala Leu Ala Phe Ala Glu Tyr Ala			
655	660	665	670
cga ctg tgc ttt caa gag ctc ggc cat cac gtc aag ctt tgg ata acg			2066
Arg Leu Cys Phe Gln Glu Leu Gly His His Val Lys Leu Trp Ile Thr			
675	680	685	
atg aat gag ccg tat aca agg aat atg aca tac agt gct ggc cac aac			2114
Met Asn Glu Pro Tyr Thr Arg Asn Met Thr Tyr Ser Ala Gly His Asn			
690	695	700	
ctt ctg aag gcc cat gcc ctg gct tgg cat gtg tac aat gaa aag ttt			2162
Leu Leu Lys Ala His Ala Leu Ala Trp His Val Tyr Asn Glu Lys Phe			
705	710	715	
agg cat gct cag aat ggg aaa ata tcc ata gcc ttg cag gct gat tgg			2210
Arg His Ala Gln Asn Gly Lys Ile Ser Ile Ala Leu Gln Ala Asp Trp			
720	725	730	
ata gaa cct gcc tgc cct ttc tcc caa aag gac aaa gag gtg gcc gag			2258
Ile Glu Pro Ala Cys Pro Phe Ser Gln Lys Asp Lys Glu Val Ala Glu			
735	740	745	750
aga gtt ttg gaa ttt gac att ggc tgg ctg gct gag ccc att ttc ggc			2306
Arg Val Leu Glu Phe Asp Ile Gly Trp Leu Ala Glu Pro Ile Phe Gly			
755	760	765	
tct gga gat tat cca tgg gtg atg agg gac tgg ctg aac caa aga aac			2354
Ser Gly Asp Tyr Pro Trp Val Met Arg Asp Trp Leu Asn Gln Arg Asn			
770	775	780	
aat ttt ctt ctt cct tat ttc act gaa gat gaa aaa aag cta atc cag			2402
Asn Phe Leu Leu Pro Tyr Phe Thr Glu Asp Glu Lys Lys Leu Ile Gln			
785	790	795	
ggt acc ttt gac ttt ttg gct tta agc cat tat acc acc atc ctt gta			2450
Gly Thr Phe Asp Phe Leu Ala Leu Ser His Tyr Thr Thr Ile Leu Val			
800	805	810	
gac tca gaa aaa gaa gat cca ata aaa tac aat gat tac cta gaa gtg			2498
Asp Ser Glu Lys Glu Asp Pro Ile Lys Tyr Asn Asp Tyr Leu Glu Val			
815	820	825	830
caa gaa atg acc gac atc acg tgg ctc aac tcc ccc agt cag gtg gcg			2546
Gln Glu Met Thr Asp Ile Thr Trp Leu Asn Ser Pro Ser Gln Val Ala			
835	840	845	
gta gtg ccc tgg ggg ttg cgc aaa gtg ctg aac tgg ctg aag ttc aag			2594
Val Val Pro Trp Gly Leu ArgLys Val Leu Asn Trp Leu Lys Phe Lys			
850	855	860	
tac gga gac ctc ccc atg tac ata ata tcc aac gga atc gat gac ggg			2642
Tyr Gly Asp Leu Pro Met Tyr Ile Ile Ser Asn Gly Ile Asp Asp Gly			
865	870	875	
ctg cat gct gag gac gac cag ctg agg gtg tat tat atg cag aat tac			2690
Leu His Ala Glu Asp Asp Gln Leu Arg Val Tyr Tyr Met Gln Asn Tyr			
880	885	890	
ata aac gaa gct ctc aaa gcc cac ata ctg gat ggt atc aat ctt tgc			2738

```

Ile Asn Glu Ala Leu Lys Ala His Ile Leu Asp Gly Ile Asn Leu Cys
895                      900                      905                      910
gga tac ttt gct tat tcg ttt aac gac cgc aca gct ccg agg ttt ggc 2786
Gly Tyr Phe Ala Tyr Ser Phe Asn Asp Arg Thr Ala Pro Arg Phe Gly
                      915                      920                      925
ctc tat cgt tat gct gca gat cag ttt gag ccc aag gca tcc atg aaa 2834
Leu Tyr Arg Tyr Ala Ala Asp Gln Phe Glu Pro Lys Ala Ser Met Lys
                      930                      935                      940
cat tac agg aaa att att gac agc aat ggt ttc ccg ggc cca gaa act 2882
His Tyr Arg Lys Ile Ile Asp Ser Asn Gly Phe Pro Gly Pro Glu Thr
                      945                      950                      955
ctg gaa aga ttt tgt cca gaa gaa ttc acc gtg tgt act gag tgc agt 2930
Leu Glu Arg Phe Cys Pro Glu Glu Phe Thr Val Cys Thr Glu Cys Ser
                      960                      965                      970
ttt ttt cac acc cga aag tct tta ctg gct ttc ata gct ttt cta ttt 2978
Phe Phe His Thr Arg Lys Ser Leu Leu Ala Phe Ile Ala Phe Leu Phe
975                      980                      985                      990
ttt gct tct att att tct ctc tcc ctt ata ttt tac tac tcg aag aaa 3026
Phe Ala Ser Ile Ile Ser Leu Ser Leu Ile Phe Tyr Tyr Ser Lys Lys
                      995                      1000                      1005
ggc aga aga agt tac aaa tagttctgaa catttttcta ttcattcatt 3074
Gly Arg Arg Ser Tyr Lys
                      1010
ttgaaataat tatgcagaca catcagctgt taaccatttg cacctctaag tgttgtgaaa 3134
ctgtaaattt catacatttg acttctaga 3163

```

【 0 0 3 4 】

```

<210> 2
<211> 3435
<212> DNA
<1> Homo sapiens
<220>
<221> CDS
<222> (9)...(1655)
<400> 2
cgcgcagc atg ccc gcc agc gcc ccg ccg cgc cgc ccg cgg ccg ccg ccg 50
Met Pro Ala Ser Ala Pro Pro Arg Arg Pro Arg Pro Pro Pro
                      1          5          10
ccg tcg ctg tcg ctg ctg ctg gtg ctg ctg ggc ctg ggc ggc cgc cgc 98
Pro Ser Leu Ser Leu Leu Leu Val Leu Leu Gly Leu Gly Gly Arg Arg
                      15          20          25          30
ctg cgt gcg gag ccg ggc gac ggc gcg cag acc tgg gcc cgt gtc tcg 146
Leu Arg Ala Glu Pro Gly Asp Gly Ala Gln Thr Trp Ala Arg Val Ser
                      35          40          45
cgg cct cct gcc ccc gag gcc gcg ggc ctc ttc cag ggc acc ttc ccc 194
Arg Pro Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Leu Phe Gln Gly Thr Phe Pro
                      50          55          60
gac ggc ttc ctc tgg gcc gtg ggc agc gcc gcc tac cag acc gag ggc 242
Asp Gly Phe Leu Trp Ala Val Gly Ser Ala Ala Tyr Gln Thr Glu Gly
                      65          70          75
ggc tgg cag cag cac ggc aag ggt gcg tcc atc tgg gac acg ttc acc 290

```

Gly	Trp	Gln	Gln	His	Gly	Lys	Gly	Ala	Ser	Ile	Trp	Asp	Thr	Phe	Thr	
80						85				90						
cac	cac	ccc	ctg	gca	ccc	ccg	gga	gac	tcc	egg	aac	gcc	agt	ctg	ccg	338
His	His	Pro	Leu	Ala	Pro	Pro	Gly	Asp	Ser	Arg	Asn	Ala	Ser	Leu	Pro	
95					100				105					110		
ttg	ggc	gcc	ccg	tcg	ccg	ctg	cag	ccc	gcc	acc	ggg	gac	gta	gcc	agc	386
Leu	Gly	Ala	Pro	Ser	Pro	Leu	Gln	Pro	Ala	Thr	Gly	Asp	Val	Ala	Ser	
				115				120					125			
gac	agc	tac	aac	aac	gtc	ttc	cgc	gac	acg	gag	gcg	ctg	cgc	gag	ctc	434
Asp	Ser	Tyr	Asn	Asn	Val	Phe	Arg	Asp	Thr	Glu	Ala	Leu	Arg	Glu	Leu	
			130					135				140				
ggg	gtc	act	cac	tac	cgc	ttc	tcc	atc	tcg	tgg	gcg	cga	gtg	ctc	ccc	482
Gly	Val	Thr	His	Tyr	Arg	Phe	Ser	Ile	Ser	Trp	Ala	Arg	Val	Leu	Pro	
		145				150				155						
aat	ggc	agc	gcg	ggc	gtc	ccc	aac	cgc	gag	ggg	ctg	cgc	tac	tac	cgg	530
Asn	Gly	Ser	Ala	Gly	Val	Pro	Asn	Arg	Glu	Gly	Leu	Arg	Tyr	Tyr	Arg	
		160				165				170						
cgc	ctg	ctg	gag	cgg	ctg	cgg	gag	ctg	ggc	gtg	cag	ccc	gtg	gtc	acc	578
Arg	Leu	Leu	Glu	Arg	Leu	Arg	Glu	Leu	Gly	Val	Gln	Pro	Val	Val	Thr	
175					180					185				190		
ctg	tac	cac	tgg	gac	ctg	ccc	cag	cgc	ctg	cag	gac	gcc	tac	ggc	ggc	626
Leu	Tyr	His	Trp	Asp	Leu	Pro	Gln	Arg	Leu	Gln	Asp	Ala	Tyr	Gly	Gly	
			195					200					205			
tgg	gcc	aac	cgc	gcc	ctg	gcc	gac	cac	ttc	agg	gat	tac	gcg	gag	ctc	674
Trp	Ala	Asn	Arg	Ala	Leu	Ala	Asp	His	Phe	Arg	Asp	Tyr	Ala	Glu	Leu	
			210					215					220			
tgc	ttc	cgc	cac	ttc	ggc	ggc	cag	gtc	aag	tac	tgg	atc	acc	atc	gac	722
Cys	Phe	Arg	His	Phe	Gly	Gly	Gln	Val	Lys	Tyr	Trp	Ile	Thr	Ile	Asp	
		225				230						235				
aac	ccc	tac	gtg	gtg	gcc	tgg	cac	ggc	tac	gcc	acc	ggg	cgc	ctg	gcc	770
Asn	Pro	Tyr	Val	Val	Ala	Trp	His	Gly	Tyr	Ala	Thr	Gly	Arg	Leu	Ala	
		240				245				250						
ccc	ggc	atc	cgg	ggc	agc	ccg	cgg	ctc	ggg	tac	ctg	gtg	gcg	cac	aac	818
Pro	Gly	Ile	Arg	Gly	Ser	Pro	Arg	Leu	Gly	Tyr	Leu	Val	Ala	His	Asn	
255					260					265				270		
ctc	ctc	ctg	gct	cat	gcc	aaa	gtc	tgg	cat	ctc	tac	aat	act	tct	ttc	866
Leu	Leu	Leu	Ala	His	Ala	Lys	Val	Trp	His	Leu	Tyr	Asn	Thr	Ser	Phe	
			275					280					285			
cgt	ccc	act	cag	gga	ggc	cag	gtg	tcc	att	gcc	cta	agc	tct	cac	tgg	914
Arg	Pro	Thr	Gln	Gly	Gly	Gln	Val	Ser	Ile	Ala	Leu	Ser	Ser	His	Trp	
		290				295				300						
atc	aat	cct	cga	aga	atg	acc	gac	cac	agc	atc	aaa	gaa	tgt	caa	aaa	962
Ile	Asn	Pro	Arg	Arg	Met	Thr	Asp	His	Ser	Ile	Lys	Glu	Cys	Gln	Lys	
		305				310				315						
tct	ctg	gac	ttt	gta	cta	ggc	tgg	ttt	gcc	aaa	ccc	gta	ttt	att	gat	1010
Ser	Leu	Asp	Phe	Val	Leu	Gly	Trp	Phe	Ala	Lys	Pro	Val	Phe	Ile	Asp	
		320				325				330						
ggc	gac	tat	ccc	gag	agc	atg	aag	aac	ctt	tca	tct	att	ctg	cct		1058
Gly	Asp	Tyr	Pro	Glu	Ser	Met	Lys	Asn	Asn	Leu	Ser	Ser	Ile	Leu	Pro	
335					340					345				350		

gat ttt act gaa tct gag aaa aag ttc atc aaa gga act gct gac ttt 1106
 Asp Phe Thr Glu Ser Glu Lys Lys Phe Ile Lys Gly Thr Ala Asp Phe
 355 360 365
 ttt gct ctt tgc ttt gga ccc acc ttg agt ttt caa ctt ttg gac cct 1154
 Phe Ala Leu Cys Phe Gly Pro Thr Leu Ser Phe Gln Leu Leu Asp Pro
 370 375 380
 cac atg aag ttc cgc caa ttg gaa tct ccc aac ctg agg caa ctg ctt 1202
 His Met Lys Phe Arg Gln Leu Glu Ser Pro Asn Leu Arg Gln Leu Leu
 385 390 395
 tcc tgg att gac ctt gaa ttt aac cat cct caa ata ttt att gtg gaa 1250
 Ser Trp Ile Asp Leu Glu Phe Asn His Pro Gln Ile Phe Ile Val Glu
 400 405 410
 aat ggc tgg ttt gtc tca ggg acc acc aag aga gat gat gcc aaa tat 1298
 Asn Gly Trp Phe Val Ser Gly Thr Thr Lys Arg Asp Asp Ala Lys Tyr
 415 420 425 430
 atg tat tac ctc aaa aag ttc atc atg gaa acc tta aaa gcc atc aag 1346
 Met Tyr Tyr Leu Lys Lys Phe Ile Met Glu Thr Leu Lys Ala Ile Lys
 435 440 445
 ctg gat ggg gtg gat gtc atc ggg tat acc gca tgg tcc ctc atg gat 1394
 Leu Asp Gly Val Asp Val Ile Gly Tyr Thr Ala Trp Ser Leu Met Asp
 450 455 460
 ggt ttc gag tgg cac aga ggt tac agc atc agg cgt gga ctc ttc tat 1442
 Gly Phe Glu Trp His Arg Gly Tyr Ser Ile Arg Arg Gly Leu Phe Tyr
 465 470 475
 gtt gac ttt cta agc cag gac aag atg ttg ttg cca aag tct tca gcc 1490
 Val Asp Phe Leu Ser Gln Asp Lys Met Leu Leu Pro Lys Ser Ser Ala
 480 485 490
 ttg ttc tac caa aag ctg ata gag aaa aat ggc ttc cct cct tta cct 1538
 Leu Phe Tyr Gln Lys Leu Ile Glu Lys Asn Gly Phe Pro Pro Leu Pro
 495 500 505 510
 gaa aat cag ccc cta gaa ggg aca ttt ccc tgt gac ttt gct tgg gga 1586
 Glu Asn Gln Pro Leu Glu Gly Thr Phe Pro Cys Asp Phe Ala Trp Gly
 515 520 525
 gtt gtt gac aac tac att caa gta agt cag ctg aca aaa cca atc agc 1634
 Val Val Asp Asn Tyr Ile Gln Val Ser Gln Leu Thr Lys Pro Ile Ser
 530 535 540
 agt ctc acc aag ccc tat cac tagtagatac cactctgtct cagtttaccg 1685
 Ser Leu Thr Lys Pro Tyr His
 545
 acctgaatgt ttacctgtgg gatgtccacc acagtaaaag gcttattaaa gtggatgggg 1745
 ttgtgaccaa gaagaggaaa tctactgtg ttgactttgc tgccatccag ccccagatcg 1805
 ctttactcca ggaaatgcac gttacacatt ttcgtttctc cctggactgg gccctgattc 1865
 tccctctggg taaccagtcc caggtgaacc acaccatcct gcagtactat cgtgcatgg 1925
 ccagegagct tgcctgtgc aacatcaccc cagtgtggc cctgtggcag cctatgcccc 1985
 cgaaccaagg actgccgcgc ctctggcca ggcagggcgc ctgggagaac cctacactg 2045
 ccttgccctt tgcagaglat gcccgactgt gctttcaaga gctcggccat cagtlcaage 2105
 tttggataac gatgaatgag ccgtatacaa ggaatatgac atacagtgt ggccacaacc 2165
 ttctgaaggc ccatgcctg gcttgccatg tgtacaatga aaagtttagg catgctcaga 2225
 atgggaaaat atccatagcc ttgcaggctg attggataga acctgcctgc cttttctccc 2285
 aaaaggacaa agaggtggcc gagagagttt tggaatttga cattggctgg ctggetgagc 2345

```

ccattttcgg ctctggagat tatccatggg tgaatgaggga ctggetgaac caaagaaaca 2405
atattttctt tccttatttc actgaagatg aaaaaaagct aatccagggt acctttgact 2465
ttttggcttt aagccattat accaccatcc ttgtagactc agaaaaagaa gatccaataa 2525
aatacaatga ttacctagaa gtgcaagaaa tgaccgacat cacgtggctc aactccccca 2585
gtcaggtggc ggtagtcccc tgggggttgc gcaaagtgc gaactggctg aagttcaagt 2645
acggagacct ccccatgtac ataatatcca acggaatcga tgacgggctg catgetgagg 2705
acgaccagct gaggggtgat tataatgcaga attacataaa cgaagctctc aaagcccaca 2765
tactggatgg tatcaatctt tgcggatact ttgettatc gtttaacgac cgcacagctc 2825
cgaggttttg cctctatcgt tatgetgcag atcagtttga gcccaaggca tccatgaaac 2885
attacaggaa aattattgac agcaatggtt tcccgggccc agaaactctg gaaagatttt 2945
gtccagaaga attcaccgtg tgtactgagt gcagttttt tcacaccga aagtccttac 3005
tggttttcat agcttttcta tttttgctt ctattatttc tctctccctt atattttact 3065
actcagaaga aggcagaaga agttacaaat agttctgaac atttttctat tcattcattt 3125
tgaaataatt atgcagacac atcagctgtt aaccatttgc acctctaagt gttgtgaaac 3185
tgtaaatctc atacatttga cttctagaaa acatttttgt ggcttatgac agaggttttg 3245
aaatgggcat aggtgatcgt aaaatattga ataatgcga tagtgctga atttgtctc 3305
tttttgggtg attaaaaaac tgacaggcac tataatttct gtaacacact aacaaaagca 3365
tgaaaaatag gaaccacacc aatgcaacat ttgtgcagaa atttgaatga caagattagg 3425
aatattttct 3435

```

【0035】

```

<210> 3
<211> 5032
<212> DNA
<1> Mouse
<220>
<221> CDS
<1> (19)... (3060)
<400> 3
cctcccggt cccgcagc atg cta gcc cgc gcc cct cct cgc cgc ccg ccg      51
               Met Leu Ala Arg Ala Pro Pro Arg Arg Pro Pro
                   1             5             10
cgg ctg gtg ctg ctc cgt ttg ctg ttg ctg cat ctg ctg ctg ctc gcc      99
Arg Leu Val Leu Leu Arg Leu Leu Leu Leu His Leu Leu Leu Leu Ala
                   15             20             25
ctg cgc gcc cgc tgc ctg agc gct gag ccg ggt cag ggc gcg cag acc     147
Leu Arg Ala Arg Cys Leu Ser Ala Glu Pro Gly Gln Gly Ala Gln Thr
                   30             35             40
tgg gct cgc ttc gcg cgc gct cct gcc cca gag gcc gct ggc ctc ctc     195
Trp Ala Arg Phe Ala Arg Ala Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Leu Leu
                   45             50             55
cac gac acc ttc ccc gac ggt ttc ctc tgg gcg gta ggc agc gcc gcc     243
His Asp Thr Phe Pro Asp Gly Phe Leu Trp Ala Val Gly Ser Ala Ala
                   60             65             70             75
tat cag acc gag ggc ggc tgg cga cag cac ggc aaa ggc gcg tcc atc     291
Tyr Gln Thr Glu Gly Gly Trp Arg Gln His Gly Lys Gly Ala Ser Ile
                   80             85             90
tgg gac act ttc acc cat cac tct ggg gcg gcc ccg tcc gac tcc ccg     339
Trp Asp Thr Phe Thr His His Ser Gly Ala Ala Pro Ser Asp Ser Pro
                   95             100            105
atc gtc gtg gcg ccg tcg ggt gcc ccg tcg cct ccc ctg tcc tcc act     387

```

Ile	Val	Val	Ala	Pro	Ser	Gly	Ala	Pro	Ser	Pro	Pro	Leu	Ser	Ser	Thr	
		110					115					120				
gga	gat	gtg	gcc	agc	gat	agt	tac	aac	aac	gtc	tac	cgc	gac	aca	gag	435
Gly	Asp	Val	Ala	Ser	Asp	Ser	Tyr	Asn	Asn	Val	Tyr	Arg	Asp	Thr	Glu	
		125				130					135					
ggg	ctg	cgc	gaa	ctg	ggg	gtc	acc	cac	tac	cgc	ttc	tcc	ata	tcg	tgg	483
Gly	Leu	Arg	Glu	Leu	Gly	Val	Thr	His	Tyr	Arg	Phe	Ser	Ile	Ser	Trp	
140					145					150				155		
gcg	cgg	gtg	ctc	ccc	aat	ggc	acc	gcg	ggc	act	ccc	aac	cgc	gag	ggg	531
Ala	Arg	Val	Leu	Pro	Asn	Gly	Thr	Ala	Gly	Thr	Pro	Asn	Arg	Glu	Gly	
			160						165				170			
ctg	cgc	tac	tac	cgg	cgg	ctg	ctg	gag	cgg	ctg	cgg	gag	ctg	ggc	gtg	579
Leu	Arg	Tyr	Tyr	Arg	Arg	Leu	Leu	Glu	Arg	Leu	Arg	Glu	Leu	Gly	Val	
		175					180				185					
cag	ccg	gtg	gtt	acc	ctg	tac	cat	tgg	gac	ctg	cca	cag	cgc	ctg	cag	627
Gln	Pro	Val	Val	Thr	Leu	Tyr	His	Trp	Asp	Leu	Pro	Gln	Arg	Leu	Gln	
		190				195					200					
gac	acc	tat	ggc	gga	tgg	gcc	aat	cgc	gcc	ctg	gcc	gac	cat	ttc	agg	675
Asp	Thr	Tyr	Gly	Gly	Trp	Ala	Asn	Arg	Ala	Leu	Ala	Asp	His	Phe	Arg	
		205				210				215						
gat	tat	gcc	gag	ctc	tgc	ttc	cgc	cac	ttc	ggt	ggt	cag	gtc	aag	tac	723
Asp	Tyr	Ala	Glu	Leu	Cys	Phe	Arg	His	Phe	Gly	Gly	Gln	Val	Lys	Tyr	
220				225					230			235				
tgg	atc	acc	att	gac	aac	ccc	tac	gtg	gtg	gcc	tgg	cac	ggg	tat	gcc	771
Trp	Ile	Thr	Ile	Asp	Asn	Pro	Tyr	Val	Val	Ala	Trp	His	Gly	Tyr	Ala	
			240				245				250					
acc	ggg	cgc	ctg	gcc	ccg	ggc	gtg	agg	ggc	agc	tcc	agg	ctc	ggg	tac	819
Thr	Gly	Arg	Leu	Ala	Pro	Gly	Val	Arg	Gly	Ser	Ser	Arg	Leu	Gly	Tyr	
		255				260				265						
ctg	gtt	gcc	cac	aac	cta	ctt	ttg	gct	cat	gcc	aaa	gtc	tgg	cat	ctc	867
Leu	Val	Ala	His	Asn	Leu	Leu	Leu	Ala	His	Ala	Lys	Val	Trp	His	Leu	
		270				275				280						
tac	aac	acc	tct	ttc	cgc	ccc	aca	cag	gga	ggc	cgg	gtg	tct	atc	gcc	915
Tyr	Asn	Thr	Ser	Phe	Arg	Pro	Thr	Gln	Gly	Gly	Arg	Val	Ser	Ile	Ala	
		285				290				295						
tta	agc	tcc	cat	tgg	atc	aat	cct	cga	aga	atg	act	gac	tat	aat	atc	963
Leu	Ser	Ser	His	Trp	Ile	Asn	Pro	Arg	Arg	Met	Thr	Asp	Tyr	Asn	Ile	
300				305					310			315				
aga	gaa	tgc	cag	aag	tct	ctt	gac	ttt	gtg	cta	ggc	tgg	ttt	gcc	aaa	1011
Arg	Glu	Cys	Gln	Lys	Ser	Leu	Asp	Phe	Val	Leu	Gly	Trp	Phe	Ala	Lys	
			320						325			330				
ccc	ata	ttt	att	gat	ggc	gac	tac	cca	gag	agt	atg	aag	aac	aac	ctc	1059
Pro	Ile	Phe	Ile	Asp	Gly	Asp	Tyr	Pro	Glu	Ser	Met	Lys	Asn	Asn	Leu	
		335				340				345						
tcg	tct	ctt	ctg	cct	gat	ttt	act	gaa	tct	gag	aag	agg	ctc	atc	aga	1107
Ser	Ser	Leu	Leu	Pro	Asp	Phe	Thr	Glu	Ser	Glu	Lys	Arg	Leu	Ile	Arg	
		350				355				360						
gga	act	gct	gac	ttt	ttt	gct	ctc	tcc	ttc	gga	cca	acc	ttg	agc	ttt	1155
Gly	Thr	Ala	Asp	Phe	Phe	Ala	Leu	Ser	Phe	Gly	Pro	Thr	Leu	Ser	Phe	
		365				370				375						

cag cta ttg gac cct aac atg aag ttc cgc caa ttg gag tct ccc aac	1203
Gln Leu Leu Asp Pro Asn Met Lys Phe Arg Gln Leu Glu Ser Pro Asn	
380 385 390 395	
ctg agg cag ctt ctg tct tgg ata gat ctg gaa tat aac cac cct cca	1251
Leu Arg Gln Leu Leu Ser Trp Ile Asp Leu Glu Tyr Asn His Pro Pro	
400 405 410	
ata ttt att gtg gaa aat ggc tgg ttt gtc tcg gga acc acc aaa agg	1299
Ile Phe Ile Val Glu Asn Gly Trp Phe Val Ser Gly Thr Thr Lys Arg	
415 420 425	
gat gat gcc aaa tat atg tat tat ctc aag aag ttc ata atg gaa acc	1347
Asp Asp Ala Lys Tyr Met Tyr Tyr Leu Lys Lys Phe Ile Met Glu Thr	
430 435 440	
tta aaa gca atc aga ctg gat ggg gtc gac gtc att ggg tac acc gcg	1395
Leu Lys Ala Ile Arg Leu Asp Gly Val Asp Val Ile Gly Tyr Thr Ala	
445 450 455	
tgg tcg ctc atg gac ggt ttc gag tgg cat agg ggc tac agc atc cgg	1443
Trp Ser Leu Met Asp Gly Phe Glu Trp His Arg Gly Tyr Ser Ile Arg	
460 465 470 475	
cga gga ctc ttc tac gtt gac ttt ctg agt cag gac aag gag ctg ttg	1491
Arg Gly Leu Phe Tyr Val Asp Phe Leu Ser Gln Asp Lys Glu Leu Leu	
480 485 490	
cca aag tct tcg gcc ttg ttc tac caa aag ctg ata gag gac aat ggc	1539
Pro Lys Ser Ser Ala Leu Phe Tyr Gln Lys Leu Ile Glu Asp Asn Gly	
495 500 505	
ttt cct cct tta cct gaa aac cag ccc ctt gaa ggg aca ttt ccc tgt	1587
Phe Pro Pro Leu Pro Glu Asn Gln Pro Leu Glu Gly Thr Phe Pro Cys	
510 515 520	
gac ttt gct tgg gga gtt gtt gac aac tac gtt caa gtg gac act act	1635
Asp Phe Ala Trp Gly Val Val Asp Asn Tyr Val Gln Val Asp Thr Thr	
525 530 535	
ctc tct cag ttt act gac ccg aat gtc tat ctg tgg gat gtg cat cac	1683
Leu Ser Gln Phe Thr Asp Pro Asn Val Tyr Leu Trp Asp Val His His	
540 545 550 555	
agt aag agg ctt att aaa gta gac ggg gtt gta gcc aag aag aga aaa	1731
Ser Lys Arg Leu Ile Lys Val Asp Gly Val Val Ala Lys Lys Arg Lys	
560 565 570	
cct tac tgt gtt gat ttc tct gcc atc cgg cct cag ata acc tta ctt	1779
Pro Tyr Cys Val Asp Phe Ser Ala Ile Arg Pro Gln Ile Thr Leu Leu	
575 580 585	
cga gaa atg cgg gtc acc cac ttt cgc ttc tcc ctg gac tgg gcc ctg	1827
Arg Glu Met Arg Val Thr His Phe Arg Phe Ser Leu Asp Trp Ala Leu	
590 595 600	
atc ttg cct ctg ggt aac cag acc caa gtg aac cac acg gtt ctg cac	1875
Ile Leu Pro Leu Gly Asn Gln Thr Gln Val Asn His Thr Val Leu His	
605 610 615	
ttc tac cgc tgc atg atc agc gag ctg gtg cac gcc aac atc act cca	1923
Phe Tyr Arg Cys Met Ile Ser Glu Leu Val His Ala Asn Ile Thr Pro	
620 625 630 635	
gtg gtg gcc ctg tgg cag cca gca gcc ccg cac caa ggc ctg cca cat	1971
Val Val Ala Leu Trp Gln Pro Ala Ala Pro His Gln Gly Leu Pro His	

640	645	650	
gcc ctt gca aaa cat ggg gcc tgg gag aac ccg cac act gct ctg gcg	2019		
Ala Leu Ala Lys His Gly Ala Trp Glu Asn Pro His Thr Ala Leu Ala			
655	660	665	
ttt gca gac tac gca aac ctg tgt ttt aaa gag ttg ggt cac tgg gtc	2067		
Phe Ala Asp Tyr Ala Asn Leu Cys Phe Lys Glu Leu Gly His Trp Val			
670	675	680	
aat ctc tgg atc acc atg aac gag cca aac aca cgg aac atg acc tat	2115		
Asn Leu Trp Ile Thr Met Asn Glu Pro Asn Thr Arg Asn Met Thr Tyr			
685	690	695	
cgt gcc ggg cac cac ctc ctg aga gcc cat gcc ttg gct tgg cat ctg	2163		
Arg Ala Gly His His Leu Leu Arg Ala His Ala Leu Ala Trp His Leu			
700	705	710	715
tac gat gac aag ttt agg gcg gct cag aaa ggc aaa ata tcc atc gcc	2211		
Tyr Asp Asp Lys Phe Arg Ala Ala Gln Lys Gly Lys Ile Ser Ile Ala			
720	725	730	
ttg cag gct gac tgg ata gaa ccg gcc tgc cct ttc tct caa aat gac	2259		
Leu Gln Ala Asp Trp Ile Glu Pro Ala Cys Pro Phe Ser Gln Asn Asp			
735	740	745	
aaa gaa gtg gcc gag aga gtt ttg gaa ttt gat ata ggc tgg ctg gca	2307		
Lys Glu Val Ala Glu Arg Val Leu Glu Phe Asp Ile Gly Trp Leu Ala			
750	755	760	
gag cct att ttt ggt tcc gga gat tat cca cgt gtg atg agg gac tgg	2355		
Glu Pro Ile Phe Gly Ser Gly Asp Tyr Pro Arg Val Met Arg Asp Trp			
765	770	775	
ctg aac caa aaa aac aat ttt ctt ttg ccc tat ttc acc gaa gat gaa	2403		
Leu Asn Gln Lys Asn Asn Phe Leu Leu Pro Tyr Phe Thr Glu Asp Glu			
780	785	790	795
aaa aag cta gtc cgg ggt tcc ttt gac ttc ctg gcg gtg agt cat tac	2451		
Lys Lys Leu Val Arg Gly Ser Phe Asp Phe Leu Ala Val Ser His Tyr			
800	805	810	
acc acc att ctg gta gac tgg gaa aag gag gat ccg atg aaa tac aac	2499		
Thr Thr Ile Leu Val Asp Trp Glu Lys Glu Asp Pro Met Lys Tyr Asn			
815	820	825	
gat tac ttg gag gta cag gag atg act gac atc aca tgg ctc aac tct	2547		
Asp Tyr Leu Glu Val Gln Glu Met Thr Asp Ile Thr Trp Leu Asn Ser			
830	835	840	
ccc agt cag gtg gca gtg gtg cct tgg ggg ctg cgc aaa gtg ctc aac	2595		
Pro Ser Gln Val Ala Val Val Pro Trp Gly Leu Arg Lys Val Leu Asn			
845	850	855	
tgg cta agg ttc aag tac gga gac ctc ccg atg tat gtg aca gcc aat	2643		
Trp Leu Arg Phe Lys Tyr Gly Asp Leu Pro Met Tyr Val Thr Ala Asn			
860	865	870	875
gga atc gat gat gac ccc cac gcc gag caa gac tca ctg agg atc tat	2691		
Gly Ile Asp Asp Asp Pro His Ala Glu Gln Asp Ser Leu Arg Ile Tyr			
880	885	890	
tat att aag aat tat gtg aat gag gct ctg aaa gcc tac gtg ttg gac	2739		
Tyr Ile Lys Asn Tyr Val Asn Glu Ala Leu Lys Ala Tyr Val Leu Asp			
895	900	905	
gac atc aac ctt tgt ggc tac ttt gcg tat tca ctt agt gat cgc tca	2787		

Asp Ile Asn Leu Cys Gly Tyr Phe Ala Tyr Ser Leu Ser Asp Arg Ser
 910 915 920
 gct ccc aag tct ggc ttt tat cga tat gct gcg aat cag ttt gag ccc 2835
 Ala Pro Lys Ser Gly Phe Tyr Arg Tyr Ala Ala Asn Gln Phe Glu Pro
 925 930 935
 aaa cca tct atg aaa cat tac agg aga att att gac agc aat ggc ttc 2883
 Lys Pro Ser Met Lys His Tyr Arg Arg Ile Ile Asp Ser Asn Gly Phe
 940 945 950 955
 ctg ggt tct gga aca ctg gga agg ttt tgt cca gaa gaa tac act gtg 2931
 Leu Gly Ser Gly Thr Leu Gly Arg Phe Cys Pro Glu Glu Tyr Thr Val
 960 965 970
 tgc acc gaa tgt gga ttt ttt caa acc cgg aag tct ttg ctg gtc ttc 2979
 Cys Thr Glu Cys Gly Phe Phe Gln Thr Arg Lys Ser Leu Leu Val Phe
 975 980 985
 atc tcg ttt ctt gtt ttt act ttt att att tct ctt gct ctc att ttt 3027
 Ile Ser Phe Leu Val Phe Thr Phe Ile Ile Ser Leu Ala Leu Ile Phe
 990 995 1000
 cac tac tcc aag aaa ggc cag aga agt tat aag taatgtgaac gtctgcctgg 3080
 His Tyr Ser Lys Lys Gly Gln Arg Ser Tyr Lys
 1005 1010
 ccattcgctt tgggatcaag atgtacacgc cgtcagccgt ttgcacctct ctgtgttgtg 3140
 agccgcattc cacacatttc gattctagaa aacccttttt gtcattgggtg gtagaggttt 3200
 taaacaggaa ttggtgagaa taaaatattg cagggtgaat ggtatctgaa tctgctctct 3260
 ttggtggcaa ttacggaatt atactacca cagtttctac agtcccccg aatggaaggc 3320
 atagaatacg gtagggataa cagtccaag cagacagaag tttaaagaac aactttaggg 3380
 acttgtttat ccatggccat ttttaattc actcctgttg gggagtaaca ctctctcaat 3440
 taccatetta acacctggac ttacctgat ccagttttac aagggtgaagt agaaaaatat 3500
 ccagtaaagg tgccaagag ccctgagtc agagcagccc attaagaagc actattccta 3560
 ccaaatgctg ctaatgtcaa ttacaaata tacttagaaa gcacattatg gacatttgta 3620
 ttcttgtgaa tgttttgag gtgtgcccta aacccagat ccttgagggc tttctcttac 3680

 caacttctct ttcagagcct gcttgttga gattcttccc cagccccctt ccccttctcc 3740
 tcttgcctcg cccacctcg ctcaccag ctgtctccag cccaaagatt ctttatttgt 3800
 ttctcattac cgaaggttgt gagccaccat gtggtttctg ggatttgaac tcattgacctc 3860
 cggaggagct gtcattctct taaccagccc atgttgaaga ttcttttgat aaattattac 3920
 aaaaaataaa gatgagccat gagctgttgg cctcttcgga agcggaact gattgatttg 3980
 attgaacatc cttttatctt tgaccagacc ttggaatgaa tgcaatgacc tttccacag 4040
 gaagaaggag gagctctcag tcaaactgta aagaatgect ctccagaata tgcgtcagc 4100
 gcttggatgc catgatgttc aactttctta gtcgacccg cagcaatcac agtgtgagca 4160
 cactgggaac ctgtccttgc ggcgcgcag atctaccgtg tgcttctgtg aagaggettt 4220
 gacgtagccc ctctttgagc tcttacacca tgctactgac ttctagaaag gctaattagg 4280
 tcttcttcta cacctaatac cctaagtctt actgactctc acgggagaag tctctgtgct 4340
 acacctgagt ggtcttattg ataacctga taccagatca ggcaagataa atccgtcata 4400
 gcaggcatgg ctaccttgc tgccacaggg tcacagcaca tagctcatca cctgtttatt 4460
 ctctcatctg caatgtgga ttgttttctt ggtgaatgat cagcttttgc tgttggtattc 4520
 ttatatacat tggacttatt attgaaatca aatgctatag aatcaatagt ttattttatg 4580
 tctatttttc ttgatcgag agtaatatat attaatgtta aaaaatttaa gaaacaaaaa 4640
 ctatatgtaa agaaaaaatt ataataaat acagagatgc tgcgtacagt tcctatgtgt 4700
 tgtgttttgt atactgagat catgtgatac gtaggcatac atcttcttgg gtttttttgt 4760
 ttttgttttt tgttttgttt tgtttgtttt tggttttttg agatagggtt tctctgtata 4820

```

gccctgctg tcctggaact cactttgcag accaggetag cctcaaaactc ttattcattt 4880
ttactgaagt aatttttctg tcattagtct tcaagagcaa aactttaata gttatggaga 4940
atattgccag aacagctcaa aactgtttta ttgtttggtc caatttccca ttaattagtt 5000
caataataaa tatcatttag aaataaaaaa aa 5032

```

【0036】

```

<210> 4
<211> 1650
<212> DNA
<1> Mouse
<220>
<221> CDS
<1> (1)...(1650)
<400> 4
atg cta gcc cgc gcc cct cct cgc cgc ccg ccg cgg ctg gtg ctg etc 48
Met Leu Ala Arg Ala Pro Pro Arg Arg Pro Pro Arg Leu Val Leu Leu
1 5 10 15
cgt ttg ctg ttg ctg cat ctg ctg ctg etc gcc ctg cgc gcc cgc tgc 96
Arg Leu Leu Leu Leu His Leu Leu Leu Leu Ala Leu Arg Ala Arg Cys
20 25 30
ctg agc gct gag ccg ggt cag gcc gcg cag acc tgg gct cgc ttc gcg 144
Leu Ser Ala Glu Pro Gly Gln Gly Ala Gln Thr Trp Ala Arg Phe Ala
35 40 45
cgc gct cct gcc cca gag gcc gct gcc etc etc cac gac acc ttc ccc 192
Arg Ala Pro Ala Pro Glu Ala Ala Gly Leu Leu His Asp Thr Phe Pro
50 55 60
gac ggt ttc etc tgg gcg gta gcc agc gcc gcc tat cag acc gag gcc 240
Asp Gly Phe Leu Trp Ala Val Gly Ser Ala Ala Tyr Gln Thr Glu Gly
65 70 75 80
ggc tgg cga cag cac gcc aaa gcc gcg tcc atc tgg gac act ttc acc 288
Gly Trp Arg Gln His Gly Lys Gly Ala Ser Ile Trp Asp Thr Phe Thr
85 90 95
cat cac tct ggg gcg gcc ccg tcc gac tcc ccg atc gtc gtg gcg ccg 336
His His Ser Gly Ala Ala Pro Ser Asp Ser Pro Ile Val Val Ala Pro
100 105 110
tcg ggt gcc ccg tcg cct ccc ctg tcc tcc act gga gat gtg gcc agc 384
Ser Gly Ala Pro Ser Pro Pro Leu Ser Ser Thr Gly Asp Val Ala Ser
115 120 125
gat agt tac aac aac gtc tac cgc gac aca gag ggg ctg cgc gaa ctg 432
Asp Ser Tyr Asn Asn Val Tyr Arg Asp Thr Glu Gly Leu Arg Glu Leu
130 135 140
ggg gtc acc cac tac cgc ttc tcc ata tcg tgg gcg cgg gtg etc ccc 480
Gly Val Thr His Tyr Arg Phe Ser Ile Ser Trp Ala Arg Val Leu Pro
145 150 155 160
aat gcc acc gcg gcc act ccc aac cgc gag ggg ctg cgc tac tac cgg 528
Asn Gly Thr Ala Gly Thr Pro Asn Arg Glu Gly Leu Arg Tyr Tyr Arg
165 170 175
cgg ctg ctg gag ccg ctg ccg gag ctg gcc gtg cag ccg gtg gtt acc 576
Arg Leu Leu Glu Arg Leu Arg Glu Leu Gly Val Gln Pro Val Val Thr
180 185 190
ctg tac cat tgg gac ctg cca cag cgc ctg cag gac acc tat gcc gga 624

```

Leu Tyr His Trp Asp Leu Pro Gln Arg Leu Gln Asp Thr Tyr Gly Gly	
195 200 205	
tgg gcc aat cgc gcc ctg gcc gac cat ttc agg gat tat gcc gag ctc	672
Trp Ala Asn Arg Ala Leu Ala Asp His Phe Arg Asp Tyr Ala Glu Leu	
210 215 220	
tgc ttc cgc cac ttc ggt ggt cag gtc aag tac tgg atc acc att gac	720
Cys Phe Arg His Phe Gly Gly Gln Val Lys Tyr Trp Ile Thr Ile Asp	
225 230 235 240	
aac ccc tac gtg gtg gcc tgg cac ggg tat gcc acc ggg cgc ctg gcc	768
Asn Pro Tyr Val Val Ala Trp His Gly Tyr Ala Thr Gly Arg Leu Ala	
245 250 255	
ccg ggc gtg agg ggc agc tcc agg ctc ggg tac ctg gtt gcc cac aac	816
Pro Gly Val Arg Gly Ser Ser Arg Leu Gly Tyr Leu Val Ala His Asn	
260 265 270	
cta ctt ttg gct cat gcc aaa gtc tgg cat ctc tac aac acc tct ttc	864
Leu Leu Leu Ala His Ala Lys Val Trp His Leu Tyr Asn Thr Ser Phe	
275 280 285	
cgc ccc aca cag gga ggc cgg gtg tct atc gcc tta agc tcc cat tgg	912
Arg Pro Thr Gln Gly Gly Arg Val Ser Ile Ala Leu Ser Ser His Trp	
290 295 300	
atc aat cct cga aga atg act gac tat aat atc aga gaa tgc cag aag	960
Ile Asn Pro Arg Arg Met Thr Asp Tyr Asn Ile Arg Glu Cys Gln Lys	
305 310 315 320	
tct ctt gac ttt gtg cta ggc tgg ttt gcc aaa ccc ata ttt att gat	1008
Ser Leu Asp Phe Val Leu Gly Trp Phe Ala Lys Pro Ile Phe Ile Asp	
325 330 335	
ggc gac tac cca gag agt atg aag aac aac ctc tcg tct ctt ctg cct	1056
Gly Asp Tyr Pro Glu Ser Met Lys Asn Asn Leu Ser Ser Leu Leu Pro	
340 345 350	
gat ttt act gaa tct gag aag agg ctc atc aga gga act gct gac ttt	1104
Asp Phe Thr Glu Ser Glu Lys Arg Leu Ile Arg Gly Thr Ala Asp Phe	
355 360 365	
ttt gct ctc tgc ttc gga cca acc ttg agc ttt cag cta ttg gac cct	1152
Phe Ala Leu Cys Phe Gly Pro Thr Leu Ser Phe Gln Leu Leu Asp Pro	
370 375 380	
aac atg aag ttc cgc caa ttg gag tct ccc aac ctg agg cag ctt cts	1200
Asn Met Lys Phe Arg Gln Leu Glu Ser Pro Asn Leu Arg Gln Leu Leu	
385 390 395 400	
tct tgg ata gat ctg gaa tat aac cac cct cca ata ttt att gtg gaa	1248
Ser Trp Ile Asp Leu Glu Tyr Asn His Pro Pro Ile Phe Ile Val Glu	
405 410 415	
aat ggc tgg ttt gtc tcg gga acc acc aaa agg gat gat gcc aaa tat	1296
Asn Gly Trp Phe Val Ser Gly Thr Thr Lys Arg Asp Asp Ala Lys Tyr	
420 425 430	
atg tat tat ctc aag aag ttc ata atg gaa acc tta aaa gca atc aga	1344
Met Tyr Tyr Leu Lys Lys Phe Ile Met Glu Thr Leu Lys Ala Ile Arg	
435 440 445	
ctg gat ggg gtc gac gtc att ggg tac acc gcg tgg tcg ctc atg gac	1392
Leu Asp Gly Val Asp Val Ile Gly Tyr Thr Ala Trp Ser Leu Met Asp	
450 455 460	

```

ggt ttc gag tgg cat agg ggc tac agc atc cgg cga gga ctc ttc tac      1440
Gly Phe Glu Trp His Arg Gly Tyr Ser Ile Arg Arg Gly Leu Phe Tyr
465              470              475              480
gtt gac ttt ctg agt cag gac aag gag ctg ttg cca aag tct tcg gcc      1488
Val Asp Phe Leu Ser Gln Asp Lys Glu Leu Leu Pro Lys Ser Ser Ala
              485              490              495
ttg ttc tac caa aag ctg ata gag gac aat ggc ttt cct cct tta cct      1536
Leu Phe Tyr Gln Lys Leu Ile Glu Asp Asn Gly Phe Pro Pro Leu Pro
              500              505              510
gaa aac cag ccc ctt gaa ggg aca ttt ccc tgt gac ttt gct tgg gga      1584
Glu Asn Gln Pro Leu Glu Gly Thr Phe Pro Cys Asp Phe Ala Trp Gly
              515              520              525
gtt gtt gac aac tac gta caa gta agt cct ttg aca aaa ccc agt gtc      1632
Val Val Asp Asn Tyr Val Gln Val Ser Pro Leu Thr Lys Pro Ser Val
              530              535              540
ggc ctc ttg ctt cct cac                                          1650
Gly Leu Leu Leu Pro His
545              550

```

【 0 0 3 7 】

```

<210> 5
<211> 3460
<212> DNA
<1> Homo sapiens
<220>
<221> CDS
<1> (60)...(3107)
<400> 5
cagggaatga atggatttctc ttcagcactg atgaaataac cacacgctat aggaataca      59
atg tcc aac ggg gga ttg caa aga tct gtc atc ctg tca gca ctt att      107
Met Ser Asn Gly Gly Leu Gln Arg Ser Val Ile Leu Ser Ala Leu Ile
   1              5              10              15
ctg cta cga gct gtt act gga ttc tct gga gat gga aga gct ata tgg      155
Leu Leu Arg Ala Val Thr Gly Phe Ser Gly Asp Gly Arg Ala Ile Trp
              20              25              30
tct aaa aat cct aat ttt act ccg gta aat gaa agt cag ctg ttt ctc      203
Ser Lys Asn Pro Asn Phe Thr Pro Val Asn Glu Ser Gln Leu Phe Leu
              35              40              45
tat ggc act ttc cct aaa aac ttt ttc tgg ggt att ggg act gga gca      251
Tyr Gly Thr Phe Pro Lys Asn Phe Phe Trp Gly Ile Gly Thr Gly Ala
              50              55              60
ttg caa gtg gaa ggg agt tgg aag aag gat gga aaa gga cct tct ata      299
Leu Gln Val Glu Gly Ser Trp Lys Lys Asp Gly Lys Gly Pro Ser Ile
              65              70              75              80
tgg gat cat ttc atc cac aca cac ctt aaa aat gtc agc agc acg aat      347
Trp Asp His Phe Ile His Thr His Leu Lys Asn Val Ser Ser Thr Asn
              85              90              95
ggt tcc agt gac agt tat att ttt ctg gaa aaa gac tta tca gcc ctg      395
Gly Ser Ser Asp Ser Tyr Ile Phe Leu Glu Lys Asp Leu Ser Ala Leu
              100              105              110
gat ttt ata gga gtt tct ttt tat caa ttt tca att tcc tgg cca agg      443

```

Asp Phe Ile Gly Val Ser Phe Tyr Gln Phe Ser Ile Ser Trp Pro Arg	
115 120 125	
ctt ttc ccc gat gga ata gta aca gtt gcc aac gca aaa ggt ctg cag	491
Leu Phe Pro Asp Gly Ile Val Thr Val Ala Asn Ala Lys Gly Leu Gln	
130 135 140	
tac tac agt act ctt ctg gac gct cta gtg ctt aga aac att gaa cct	539
Tyr Tyr Ser Thr Leu Leu Asp Ala Leu Val Leu Arg Asn Ile Glu Pro	
145 150 155 160	
ata gtt act tta tac cac tgg gat ttg cct ttg gca cta caa gaa aaa	587
Ile Val Thr Leu Tyr His Trp Asp Leu Pro Leu Ala Leu Gln Glu Lys	
165 170 175	
tat ggg ggg tgg aaa aat gat acc ata ata gat atc ttc aat gac tat	635
Tyr Gly Gly Trp Lys Asn Asp Thr Ile Ile Asp Ile Phe Asn Asp Tyr	
180 185 190	
gcc aca tac tgt ttc cag atg ttt ggg gac cgt gtc aaa tat tgg att	683
Ala Thr Tyr Cys Phe Gln Met Phe Gly Asp Arg Val Lys Tyr Trp Ile	
195 200 205	
aca att cac aac cca tat cta gtg gct tgg cat ggg tat ggg aca ggt	731
Thr Ile His Asn Pro Tyr Leu Val Ala Trp His Gly Tyr Gly Thr Gly	
210 215 220	
atg cat gcc cct gga gag aag gga aat tta gca gct gtc tac act gtg	779
Met His Ala Pro Gly Glu Lys Gly Asn Leu Ala Ala Val Tyr Thr Val	
225 230 235 240	
gga cac aac ttg atc aag gct cac tcg aaa gtt tgg cat aac tac aac	827
Gly His Asn Leu Ile Lys Ala His Ser Lys Val Trp His Asn Tyr Asn	
245 250 255	
aca cat ttc cgc cca cat cag aag ggt tgg tta tcg atc acg ttg gga	875
Thr His Phe Arg Pro His Gln Lys Gly Trp Leu Ser Ile Thr Leu Gly	
260 265 270	
tct cat tgg atc gag cca aac cgg tcg gaa aac acg atg gat ata ttc	923
Ser His Trp Ile Glu Pro Asn Arg Ser Glu Asn Thr Met Asp Ile Phe	
275 280 285	
aaa tgt caa caa tcc atg gtt tct gtg ctt gga tgg ttt gcc aac cct	971
Lys Cys Gln Gln Ser Met Val Ser Val Leu Gly Trp Phe Ala Asn Pro	
290 295 300	
atc cat ggg gat ggc gac tat cca gag ggg atg aga aag aag ttg ttc	1019
Ile His Gly Asp Gly Asp Tyr Pro Glu Gly Met Arg Lys Lys Leu Phe	
305 310 315 320	
tcc gtt cta ccc att ttc tct gaa gca gag aag cat gag atg aga ggc	1067
Ser Val Leu Pro Ile Phe Ser Glu Ala Glu Lys His Glu Met Arg Gly	
325 330 335	
aca gct gat ttc ttt gcc ttt tct ttt gga ccc aac aac ttc aag ccc	1115
Thr Ala Asp Phe Phe Ala Phe Ser Phe Gly Pro Asn Asn Phe Lys Pro	
340 345 350	
cta aac acc atg gct aaa atg gga caa aat gtt tca ctt aat tta aga	1163
Leu Asn Thr Met Ala Lys Met Gly Gln Asn Val Ser Leu Asn Leu Arg	
355 360 365	
gaa gcg ctg aac tgg att aaa ctg gaa tac aac aac cct cga atc ttg	1211
Glu Ala Leu Asn Trp Ile Lys Leu Glu Tyr Asn Asn Pro Arg Ile Leu	

370	375	380	
att gct gag aat ggc tgg ttc aca gac agt cgt gtg aaa aca gaa gac			1259
Ile Ala Glu Asn Gly Trp Phe Thr Asp Ser Arg Val Lys Thr Glu Asp			
385	390	395	400
acc acg gcc atc tac atg atg aag aat ttc ctc agc cag gtg ctt caa			1307
Thr Thr Ala Ile Tyr Met Met Lys Asn Phe Leu Ser Gln Val Leu Gln			
405	410	415	
gca ata agg tta gat gaa ata cga gtg ttt ggt tat act gcc tgg tct			1355
Ala Ile Arg Leu Asp Glu Ile Arg Val Phe Gly Tyr Thr Ala Trp Ser			
420	425	430	
ctc ctg gat ggc ttt gaa tgg cag gat gct tac acc atc cgc cga gga			1403
Leu Leu Asp Gly Phe Glu Trp Gln Asp Ala Tyr Thr Ile Arg Arg Gly			
435	440	445	
tta ttt tat gtg gat ttt aac agt aaa cag aaa gag cgg aaa cct aag			1451
Leu Phe Tyr Val Asp Phe Asn Ser Lys Gln Lys Glu Arg Lys Pro Lys			
450	455	460	
tct tca gca cac tac tac aaa cag atc ata cga gaa aat ggt ttt tct			1499
Ser Ser Ala His Tyr Tyr Lys Gln Ile Ile Arg Glu Asn Gly Phe Ser			
465	470	475	480
tta aaa gag tcc acg cca gat gtg cag ggc cag ttt ccc tgt gac ttc			1547
Leu Lys Glu Ser Thr Pro Asp Val Gln Gly Gln Phe Pro Cys Asp Phe			
485	490	495	
tcc tgg ggt gtc act gaa tct gtt ctt aag ccc gag tct gtg gct tgc			1595
Ser Trp Gly Val Thr Glu Ser Val Leu Lys Pro Glu Ser Val Ala Ser			
500	505	510	
tcc cca cag ttc agc gat cct cat ctg tac gtg tgg aac gcc act ggc			1643
Ser Pro Gln Phe Ser Asp Pro His Leu Tyr Val Trp Asn Ala Thr Gly			
515	520	525	
aac aga ctg ttg cac cga gtg gaa ggg gtg agg ctg aaa aca cga ccc			1691
Asn Arg Leu Leu His Arg Val Glu Gly Val Arg Leu Lys Thr Arg Pro			
530	535	540	
gct caa tgc aca gat ttt gta aac atc aaa aaa caa ctt gag atg ttg			1739
Ala Gln Cys Thr Asp Phe Val Asn Ile Lys Lys Gln Leu Glu Met Leu			
545	550	555	560
gca aga atg aaa gtc acc cac tac cgg ttt gct ctg gat tgg gcc tgc			1787
Ala Arg Met Lys Val Thr His Tyr Arg Phe Ala Leu Asp Trp Ala Ser			
565	570	575	
gtc ctt ccc act ggc aac ctg tcc gcg gtg aac cga cag gcc ctg agg			1835
Val Leu Pro Thr Gly Asn Leu Ser Ala Val Asn Arg Gln Ala Leu Arg			
580	585	590	
tac tac agg tgc gtg gtc agt gag ggg ctg aag ctt ggc atc tcc gcg			1883
Tyr Tyr Arg Cys Val Val Ser Glu Gly Leu Lys Leu Gly Ile Ser Ala			
595	600	605	
atg gtc acc ctg tat tat ccg acc cac gcc cac cta ggc ctc ccc gag			1931
Met Val Thr Leu Tyr Tyr Pro Thr His Ala His Leu Gly Leu Pro Glu			
610	615	620	
cct ctg ttg cat gcc gac ggg tgg ctg aac cca tcg acg gcc gag gcc			1979
Pro Leu Leu His Ala Asp Gly Trp Leu Asn Pro Ser Thr Ala Glu Ala			
625	630	635	640
ttc cag gcc tac gct ggg ctg tgc ttc cag gag ctg ggg gac ctg gtg			2027

Phe Gln Ala Tyr Ala Gly Leu Cys Phe Gln Glu Leu Gly Asp Leu Val	
645 650 655	
aag ctc tgg atc acc atc aac gag cct aac cgg cta agt gac atc tac	2075
Lys Leu Trp Ile Thr Ile Asn Glu Pro Asn Arg Leu Ser Asp Ile Tyr	
660 665 670	
aac cgc tct ggc aac gac acc tac ggg gcg gcg cac aac ctg ctg gtg	2123
Asn Arg Ser Gly Asn Asp Thr Tyr Gly Ala Ala His Asn Leu Leu Val	
675 680 685	
gcc cac gcc ctg gcc tgg cgc ctc tac gac cag cag ttc agg ccg tca	2171
Ala His Ala Leu Ala Trp Arg Leu Tyr Asp Gln Gln Phe Arg Pro Ser	
690 695 700	
cag cgc ggg gcc gtg tcg ctg tcg ctg cac gcg gac tgg gcg gaa ccc	2219
Gln Arg Gly Ala Val Ser Leu Ser Leu His Ala Asp Trp Ala Glu Pro	
705 710 715 720	
gcc aac ccc tat gct gac tcg cac tgg agg gcg gcc gag cgc ttc ctg	2267
Ala Asn Pro Tyr Ala Asp Ser His Trp Arg Ala Ala Glu Arg Phe Leu	
725 730 735	
cag ttc gag atc gcc tgg ttc gcc gag ccg ctc ttc aag acc ggg gac	2315
Gln Phe Glu Ile Ala Trp Phe Ala Glu Pro Leu Phe Lys Thr Gly Asp	
740 745 750	
tac ccc gcg gcc atg agg gaa tac att gcc tcc aag cac cga cgg ggg	2363
Tyr Pro Ala Ala Met Arg Glu Tyr Ile Ala Ser Lys His Arg Arg Gly	
755 760 765	
ctt tcc agc tcg gcc ctg ccg cgc ctc acc gag gcc gaa agg agg ctg	2411
Leu Ser Ser Ser Ala Leu Pro Arg Leu Thr Glu Ala Glu Arg Arg Leu	
770 775 780	
ctc aag ggc acg gtc gac ttc tgc gcg ctc aac cac ttc acc act agg	2459
Leu Lys Gly Thr Val Asp Phe Cys Ala Leu Asn His Phe Thr Thr Arg	
785 790 795 800	
ttc gtg atg cac gag cag ctg gcc ggc agc cgc tac gac tcg gac agg	2507
Phe Val Met His Glu Gln Leu Ala Gly Ser Arg Tyr Asp Ser Asp Arg	
805 810 815	
gac atc cag ttt ctg cag gac atc acc cgc ctg agc tcc ccc acg cgc	2555
Asp Ile Gln Phe Leu Gln Asp Ile Thr Arg Leu Ser Ser Pro Thr Arg	
820 825 830	
ctg gct gtg att ccc tgg ggg gtg cgc aag ctg ctg cgg tgg gtc cgg	2603
Leu Ala Val Ile Pro Trp Gly Val Arg Lys Leu Leu Arg Trp Val Arg	
835 840 845	
agg aac tac ggc gac atg gac att tac atc acc gcc agt ggc atc gac	2651
Arg Asn Tyr Gly Asp Met Asp Ile Tyr Ile Thr Ala Ser Gly Ile Asp	
850 855 860	
gac cag gct ctg gag gat gac cgg ctc cgg aag tac tac cta ggg aag	2699
Asp Gln Ala Leu Glu Asp Asp Arg Leu Arg Lys Tyr Tyr Leu Gly Lys	
865 870 875 880	
tac ctt cag gag gtg ctg aaa gca tac ctg att gat aaa gtc aga atc	2747
Tyr Leu Gln Glu Val Leu Lys Ala Tyr Leu Ile Asp Lys Val Arg Ile	
885 890 895	
aaa ggc tat tat gca ttc aaa ctg gct gaa gag aaa tct aaa ccc aga	2795
Lys Gly Tyr Tyr Ala Phe Lys Leu Ala Glu Glu Lys Ser Lys Pro Arg	
900 905 910	


```

ttt gga ttc ttc aca tct gat ttt aaa gct aaa tcc tca ata caa ttt 2843
Phe Gly Phe Phe Thr Ser Asp Phe Lys Ala Lys Ser Ser Ile Gln Phe
      915              920              925
tac aac aaa gtg atc agc agc agg ggc ttc cct ttt gag aac agt agt 2891
Tyr Asn Lys Val Ile Ser Ser Arg Gly Phe Pro Phe Glu Asn Ser Ser
      930              935              940
tct aga tgc agt cag acc caa gaa aat aca gag tgc act gtc tgc tta 2939
Ser Arg Cys Ser Gln Thr Gln Glu Asn Thr Glu Cys Thr Val Cys Leu
      945              950              955              960
ttc ctt gtg cag aag aaa cca ctg ata ttc ctg ggt tgt tgc ttc ttc 2987
Phe Leu Val Gln Lys Lys Pro Leu Ile Phe Leu Gly Cys Cys Phe Phe
      965              970              975
tcc acc ctg gtt cta ctc tta tca att gcc att ttt caa agg cag aag 3035
Ser Thr Leu Val Leu Leu Leu Ser Ile Ala Ile Phe Gln Arg Gln Lys
      980              985              990
aga aga aag ttt tgg aaa gca aaa aac tta caa cac ata cca tta aag 3083
Arg Arg Phe Trp Lys Ala Lys Asn Leu Gln His Ile Pro Leu Lys
      995              1000              1005
aaa ggc aag aga gtt gtt agc taaactgac tgtctgcatg atagacagtt 3134
Lys Gly Lys Arg Val Val Ser
      1010              1015
taaaaaattca tcccagttcc atatgctggt aacttacagg agatatacct gtattataga 3194
aagacaatct gagatacagc tgtaaccaag gtgatgacaa ttgtctctgc tgtgtggttc 3254
aaagaacatt cccttaggtg ttgacatcag tgaactcagt tcttggaagt aaacataaag 3314
gcttcacatc gacagtaagc tatgaggatt acatgctaca ttgcttctta aagtttcac 3374
aactgtattc catcattctg ctttagcttt catctctacc aatagctact tgtggtacaa 3434
taaattatatt ttaagaagaa aaaaaa 3460

```

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁷	識別記号	F I	(参考)
A 6 1 P 9/10	1 0 1	A 6 1 P 9/10	1 0 1
9/12		9/12	
25/00		25/00	
C 1 2 N 15/09	Z N A	C 1 2 N 15/00	Z N A A

(72)発明者	飯田 卓子	F ターム(参考)	4B024 AA01 BA80 CA04 DA02 EA02
	東京都町田市旭町3丁目6番6号 協和醗		EA04 GA11 HA17
	酵工業株式会社東京研究所内		4C084 AA13 ZA362 ZA422 ZA452
			ZC332 ZC352 ZC522
			4C087 AA01 AA02 BC83 CA12 ZA36
			ZA42 ZA45 ZC33 ZC35 ZC52